

Vol. 18

1947-48

ARQUIVOS
DO
INSTITUTO BIOLOGICO

• Departamento da Defesa Sanitária da Agricultura •



SECRETARIA DA AGRICULTURA
SÃO PAULO
BRASIL

Os Arquivos do Instituto Biologico aparecem sob a forma de artigos separados publicados à medida de sua apresentação, os quais anualmente são reunidos em um volume, que pode ser adquirido por permuta ou compra pelo preço marcado na capa.

Os artigos separados, impressos em número limitado, são obtidos apenas por permuta.

Toda correspondencia referente aos Arquivos deve ser dirigida ao Diretor Geral do Instituto Biologico, (Departamento de Defesa Sanitária da Agricultura) Caixa Postal 119-A, São Paulo, Brasil.

Diretor Geral: Prof. Dr. H. da Rocha Lima.

The "Arquivos do Instituto Biologico" appear in the form of separate articles published as they are presented, and are annually united in one volume, which may be acquired by exchange or purchase at the price indicated on the cover.

The separate articles, a limited number of which is printed, may be obtained by exchange.

All correspondence referring to the "Arquivos" should be addressed to — Diretor Geral do Instituto Biologico, P. O. Box 119-A -- São Paulo, Brazil.

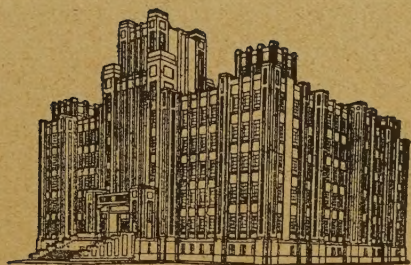
PREÇO DESTE NUMERO CR \$ 50,00

Vol. 18

1947-48

ARQUIVOS
DO
INSTITUTO BIOLÓGICO

• Departamento da Defesa Sanitária da Agricultura •



SECRETARIA DA AGRICULTURA
SÃO PAULO
BRASIL

SUMÁRIO

	Pags.
1. Lepage, H. S., O. Giannotti e A. Orlando — R. B. 108 — UM NOVO INSETICIDA — Estampas 1-2. R. B. 1018 — A new Insecticide	1-30
2. Almeida, P. R. de — ENSAIOS DE LABORATÓRIO SOBRE A TOXIDEZ DO "DDT" AOS PEIXES GUARÚS (PHALLOCERUS CAUDIMACULATUS HENSEL). <i>Laboratory Experiments on the Toxicity of "DDT" to the "Guarú" fish (Phallocerus caudimaculatus HENSEL).</i>	31-37
3. Autuori, M. — CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO DA SAÚVA (ATTA spp. — HYMENOPTERA-FORMICIDAE) IV - O SAU-VEIRO DEPOIS DA 1. ^a REVOADA (ATTA SEXDENS RUBROPILOSA FOREL, 1908) — Com 1 figura no texto e estampa 3-4. <i>Contribution to the Knowledge of the "Saúva" (Atta spp. — Hymenoptera-Formicidae). IV — The Saúva-nest after the first Nuptial-flight (Atta sexdens rubropilosa FOREL, 1908)</i>	39-70
4. Pereira, C. e M. P. de Castro — FORESE E PARTENOGENESE ARRENÓTOCA EM "MACROCHELES MUSCAEDOMESTICAE (SCOPOLI)" (ACARINA: MACROCHELIDAE) E SUA SIGNIFICAÇÃO ECOLÓGICA — Com 1 figura no texto. <i>Phoresy and Arrhenotocous Parthenogenesis in "Macrocheles muscaedomesticae (Scopoli)" (Acarina: Macrochelidae) and their Ecological Bearings</i>	71-89
5. Nobrega, P. e A. S. Reis — O DIAGNÓSTICO DA ESPIROQUETOSE AVIÁRIA EM ANIMAIS MORTOS. <i>The Diagnosis of Avian Spirochaetosis in Dead Birds</i>	91-96
6. Rossetti, Victoria — ESTUDOS SOBRE A "GOMOSE DE PHYTOPHTHORA" DOS CITRUS — I - SUSCETIBILIDADE DE DIVERSAS ESPÉCIES CÍTRICAS A ALGUMAS ESPÉCIES DE "PHYTOPHTHORA" — Com 2 figuras no texto e estampas 5-7. <i>Susceptibility of different Species of Citrus to some Species of Phytophthora</i>	97-124
7. Castro, M. P. de e C. Pereira — ÁCAROS NASÍCOLAS (PARASITIFORMES: RHINONYSSIDAE) DO PARDAL — "PASSER DOMESTICUS L." — Com 12 figuras no texto. <i>Nasicolous Mites (Parasitiformes: Rhinonyssidae) from the Sparrow — "Passer domesticus L."</i>	125-133

(CONTINUA)

- | | Pags. |
|--|---------|
| 8. Lepage, H. S., O. Giannotti e A. Orlando — OBSERVAÇÕES SOBRE OS MEIOS QUÍMICOS DE CONTRÔLE DO GAFANHOTO MIGRATÓRIO SUL-AMERICANO "SCHISTOCERCA CANCELLATA (SERV.)" SOB AS FÓRMAS DE POLVILHAMENTOS E PULVERIZAÇÕES — Estampas 8-9.
<i>Experiments on the Chemical Control of the South American Migratory Locust "Schistocerca cancellata (SERV.)"</i> | 135-160 |
| 9. Cury, R., A. M. Penha e M. D'Apice — VACINA CONTRA A PESTE SUINA — TÉCNICA DE PREPARO. FATORES QUE INTERFEREM NA SUA EFICIÊNCIA. IMUNIZAÇÃO POR VIA INTRADÉRMICA.
<i>Vaccine against Hog Cholera. Technique of Preparation. Factors which interfere with its Efficiency. Immunization by Intradermal Route</i> | 161-211 |
| 10. Toledo, A. A. de — IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA BROCA DO CAFÉ "HYPOTHENEMUS HAMPEI (FERR.)" NO ESTADO DE S. PAULO.
<i>The Economic Importance of the Coffee Berry Borer "Hypothenemus hampei (FERR.)" in the State of S. Paulo, Brazil</i> .. | 213-238 |
| 11. Meyer, J. R. — AÇÃO ANTINEOPLÁSICA DOS FILTRADOS DE CULTURA DE "ASPERGILLUS FLAVUS LINK" DEMONSTRADA "IN VITRO" SOBRE UM TUMOR TRANSPLANTÁVEL DO CAMONDONGO.
<i>Antineoplastic Action of Crude Filtrates of Cultures of "Aspergillus flavus LINK" demonstrated "in vitro" on a Transplantable Tumor of the Mouse</i> | 239-242 |
| 12. Carneiro, V. e W. H. Cardim — A DOENÇA DE AUJESZKY EM SUINOS NO BRASIL.
<i>Aujeszky's Disease in Swine in Brazil</i> | 243-252 |
| 13. Castro, M. P. de — REESTRUTURAÇÃO GENÉRICA DA FAMÍLIA "RHINONYSSIDAE" VITZTHUM, 1935 (ACARI MESOSTIGMATA: GAMASIDES) E DESCRIÇÃO DE ALGUMAS ESPÉCIES NOVAS — Com 40 figuras no texto.
<i>Reclassification of Genera of the Family "Rhinonyssidae" and Description of some New Species</i> | 253-284 |
| 14. Guida, V. O. — SOBRE A PRESENÇA DE LEPTOSPIRA EM SUINOS NO BRASIL.
<i>On the Presence of Leptospire in Swine in Brazil</i> | 285-287 |
| 15. Silberschmidt, K. — OBSERVAÇÕES SOBRE O TEOR DE VIRUS DE BATATINHAS COLOMBIANAS — Estampas 10-13.
<i>Observations on the Virus Content of Colombian Potatoes</i> .. | 289-312 |

16. Bitancourt, A. A. e A. J. Rodrigues Filho — ESTUDOS SOBRE A "TRISTEZA" DOS CITRUS — I - ANÁLISE ESTATÍSTICA DA DISTRIBUIÇÃO DAS ÁRVORES DOENTES DE UM POMAR DE LARANJEIRA DOCE ENXERTADA SOBRE LARANJEIRA AZEDA — Com 5 figuras no texto.
Studies on the "Tristeza" Disease of Citrus. I. Statistical Analyses of the Distribution of Diseased Trees in an Orchard of Sweet Orange budded on Sour Orange 313-338
17. Pereira Junior, J. — VAGOTOMIA ALTA BILATERAL NA COBAIA — I - IMPORTÂNCIA DA IRRITABILIDADE DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL NA DURAÇÃO DA SOBREVIVÊNCIA.
Double Vagotomy high in the Neck in the Guinea-Pig. I - Rôle of the Irritability of the Central Nervous System in the Survival Length 339-361
18. Pereira, C. e M. J. de Mello — PAPEL DA PREDISPOSIÇÃO DO HOSPEDEIRO NA PRODUÇÃO DA HABRONEMOSE CUTÂNEA ("ESPONJA"). DOS EQUÍDEOS — Estampa 14.
Rôle of the Host Predisposition on the Production of Cutaneous Habronemiasis ("summer-sores") of Equines 363-380

R. B. 1018 - UM NOVO INSETICIDA (*)

POR

H. S. Lepage, O. Giannotti e A. Orlando

Do Instituto Biológico de S. Paulo

Com as estampas 1-2

I — INTRODUÇÃO

Um dos problemas que nos têm levado a realizar numerosos ensaios, é o do contróle do “curuquerê” do algodoeiro, *Alabama argillacea* (HÜBN.) por meio de inseticidas não derivados do arsênico. Em 1945 TUFFY COURY e GUIDO RANZANI (2) mostraram, em experiências realizadas na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, que o arseniato de chumbo, produto largamente empregado no contróle dessa praga, quando incorporado à terra em determinadas concentrações, é capaz de produzir na planta, lesões prejudiciais ao seu desenvolvimento normal. Isso quer dizer que o cultivo contínuo do algodão em determinada área de sólo, com o indispensável emprego do arseniato de chumbo no contróle da lagarta, poderá levar, depois de certo tempo, a uma concentração de inseticida, no terreno, que se torne prejudicial à planta. Por outro lado, esse composto arsenical apenas contróla o “curuquerê”, não tendo atividade alguma sobre o pulgão *Aphis gossypii* GLOVER, o percevejo rajado *Horcius nobilellus* (BERG) — responsável pela queda dos botões, segundo trabalho de SAUER (8) — e relativamente pequena sobre a bróca do caule, *Eutinobothrus brasiliensis* (HAMBL.) (7), sendo necessária a aplicação de outros inseticidas para o contróle destas pragas. Dos inseticidas modernos, apenas o “666” (Hexachlorociclohexana), a 10%, em polvilhamento, mostrou-se ativo para o “curuquerê” e para o pulgão, segundo experiências de IVY e EWING (3), realizadas nos Estados Unidos. Esses resultados foram confirmados por nós, em experiências não publicadas. Como consequencia desses ensaios, esse derivado orgânico do chloro tornou-se o produto mais apropriado para o contróle dos insétos do algodoeiro.

(*) Ao que estamos informados, o produto terá o nome comercial de “RHODIATOX”.

Nota: Entregue para publicação em 2/7/1947.

Sôbre essas questões, tivemos oportunidade de trocar idéas, em fins do ano passado, com um Diretor da Cia. Quimica Rhodia Brasileira S/A., que nos forneceu, em Fevereiro do corrente ano, uma amostra de cerca de 30cc de um produto sob a denominação de R. B. 1018, sintetizado recentemente nos laboratórios daquela firma, na França, e de cujas propriedades inseticidas apenas algumas observações relativas à mosca domestica eram conhecidas. De posse desse material, iniciamos uma série de experiências em laboratório, com diversos insétos, e ante os excelentes resultados aí obtidos, passamos a fazer experimentações no campo, afim de colher observações preliminares sôbre a fitotoxidês do produto e contrôle do "curuquerê" do algodoeiro; simultaneamente, realizamos alguns ensaios para verificação da sua toxidês sôbre animais de sangue quente.

Ao concluir nossas experiências com o R. B. 1018, tivemos em mãos o trabalho de LUDVIG e DECKER (6) publicado em Fevereiro do corrente ano (1947) no qual são relatados os resultados obtidos em experiências com 46 esteres do acido fosfórico com os afídios *Myzus persicae* e *M. porosus*.

O produto por nós experimentado não é nenhum dos 46 esteres do acido fosfórico relacionados no citado trabalho, e pelos resultados obtidos em nossas experiências verifica-se que o R.B.1018 é mais tóxico que qualquer deles.

II — PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS

O R.B.1018 é um derivado orgânico do fósforo, apresentando-se sob a fôrma de um liquido xaroposo, de côr pardo-escuro, e cheiro que lembra o do alho. É solúvel nos solventes orgânicos, porem muito pouco solúvel na agua.

III — MATERIAL E TÉCNICA

Segundo as recomendações da Rhodia, o produto poderia ser experimentado depois de absorvido em talco ou kaolim, por não se haver conseguido um bom emulsionante para ele. Por essa razão, nos primeiros ensaios, absorvemos o produto em kaolim ou talco, na proporção de 2%, e com esse concentrado preparamos as diluições a serem aplicadas, já na forma de pó, já em suspensão na agua. Posteriormente conseguimos emulsiona-lo em agua, por meio do sulforicinoleato de sódio, empregando a seguinte formula:

R. B. 1018	4 cc
Acetona	40 cc
Alcool	52 cc
Sulforicinoleato de sódio	4 cc

Para a aplicação, este concentrado, contendo 4% de principio ativo, era diluido em agua nas proporções desejadas. Finalmente verificamos que uma solução acetonica a 4% produz uma bôa dispersão na agua, o que permitiu utilizarmos o composto tambem nessas condições. Foram realizados ensaios de contáto e ingestão, empregando-se torres de pulverização e polvilhamento (Estampas 1 e 2 A); em alguns casos utilizamos simplesmente pequenos pulverizadores manuais, de laboratório. As concentrações referidas no texto dizem respeito sempre ao principio ativo. Os insétos utilizados foram na maioria coletados no campo, sendo pequena parte criada em laboratório. Na contagem final incluímos entre os mortos apenas os fortemente intoxicados, isto é, os que apresentavam ligeiros movimentos; insétos que, apesar de se mostrarem afetados pelo inseticida, ainda apresentavam certa atividade, foram considerados vivos.

IV — ENSAIOS SÔBRE AS PROPRIEDADES INSETICIDAS

1) — *Curuquerê do algodoeiro* — *Alabama argillacea* (HÜBN.) — a) — Contáto — Grupos de 10 lagartas no ultimo "instar" foram colocadas em caixas de Petri, cobertas com téla de arame de malha larga e pulverizados, por meio da torre, com 5cc da emulsão em concentrações que variavam de 1/2.500 a 1/80.000. Os resultados, compreendendo duas repetições, acham-se resumidos na tabela 1.

O mesmo ensaio foi repetido, porem com a solução acetonica a 4%, e dispersão na agua em diferentes concentrações. Pela tabela 2, que contem os dados desta experiência, pôde-se verificar que a emulsão foi mais ativa, pois enquanto esta determinou uma mortalidade de 100% após 48 horas, a 1/20.000, a suspensão acetona-agua, no mesmo tempo, determinou sómente 80% de mortalidade e em uma concentração bem mais elevada, ou seja 1/1.250.

O R.B.1018, absorvido em kaolim, a 2%, tambem foi experimentado em suspensão aquosa, nas concentrações de 1/5.000 a 1/10.000, por meio de pulverizador manual, dando 100% de mortalidade em 24 horas. Dezesseis dias após a preparação, foi repetido o teste, obtendo-se os mesmos resultados. Com relação ao concentrado contendo 4% de R.B.1018 e 4% de sulforicinoleato de sódio, constatamos que, após o periodo de um mês, ha uma perda parcial de atividade, cuja causa desconhecemos. Esse ponto, ainda obscuro, está sendo motivo de estudos, e entre outras modificações, diferentes emulsificadores estão sendo usados, pois o sulforicinoleato de sódio poderá ter alguma relação com o fáto. Em suma,

pelo que pudemos observar, para uma completa atividade do produto é necessário que a inclusão do sulforicinoleato seja feita na ocasião da aplicação.

TABELA 1

Resultados conseguidos pelas pulverizações diretas de lagartas de *Alabama argillacea* (Curuquerê do algodoeiro) com o R. B. 1018 sob a forma de emulsão.

Concentração em R. B. 1018	N.º de Lagartas	Tempo necessário p/ produzir 100% de mortalidade. (horas)	N.º de mortos (48 hs.)	% de mortalidade (48 hs.)
1:1.250	10	1,30	10	100,0
	10	4,18	10	100,0
1:2.500	10	1,45	10	100,0
	10	3,28	10	100,0
1:5.000	10	3,25	10	100,0
	10	3,24	10	100,0
1:10.000	10	26,30	10	100,0
	10	—	9	90,0
1:20.000	10	2,55	10	100,0
	10	7,38	10	100,0
1:40.000	10	—	9	90,0
	10	—	6	60,0
1:80.000	10	—	4	40,0
Testemunha	10	—	0	0

Afim de verificar a ação residual, uma planta de algodoeiro foi pulverizada com uma suspensão de 1/5.000 e infestada com 10 lagartas. Após 12 hs. verificou-se uma mortalidade de 100%. Essa mesma planta, conservada em condições de laboratório durante 48 horas e reinfestada com 10 lagartas, apresentou os mesmos resultados. Em ambos os casos a alimentação das lagartas foi muito reduzida.

Sob forma de polvilhamento também foi realizada uma série de ensaios, tendo sido feita a aplicação por meio de uma campanula onde eram injetados 0,5 gr de pó (Estampa 1 b e est. 2, fig. A), em concentrações que variavam de 1/800 a 1/3.200. Os resultados acham-se resumidos na tabela 3.

TABELA 2

Eficiência apresentada pelas pulverizações de R. B. 1018 dissolvido em acetona e dispersado em água em diferentes diluições, sobre lagartas de *Alabama argillacea* (Curuquerê do algodoeiro).

Concentração em R. B. 1018	N.º de Lagartas	N.º de mortos (48 hs.)	Porcentagem de mortalidade (48 hs.)
1:1.250	10	8	80,0
1:2.500	10	5	50,0
1:5.000	10	2	20,0
1:10.000	10	2	20,0
1:20.000	10	1	10,0
1:40.000	10	0	0

TABELA 3

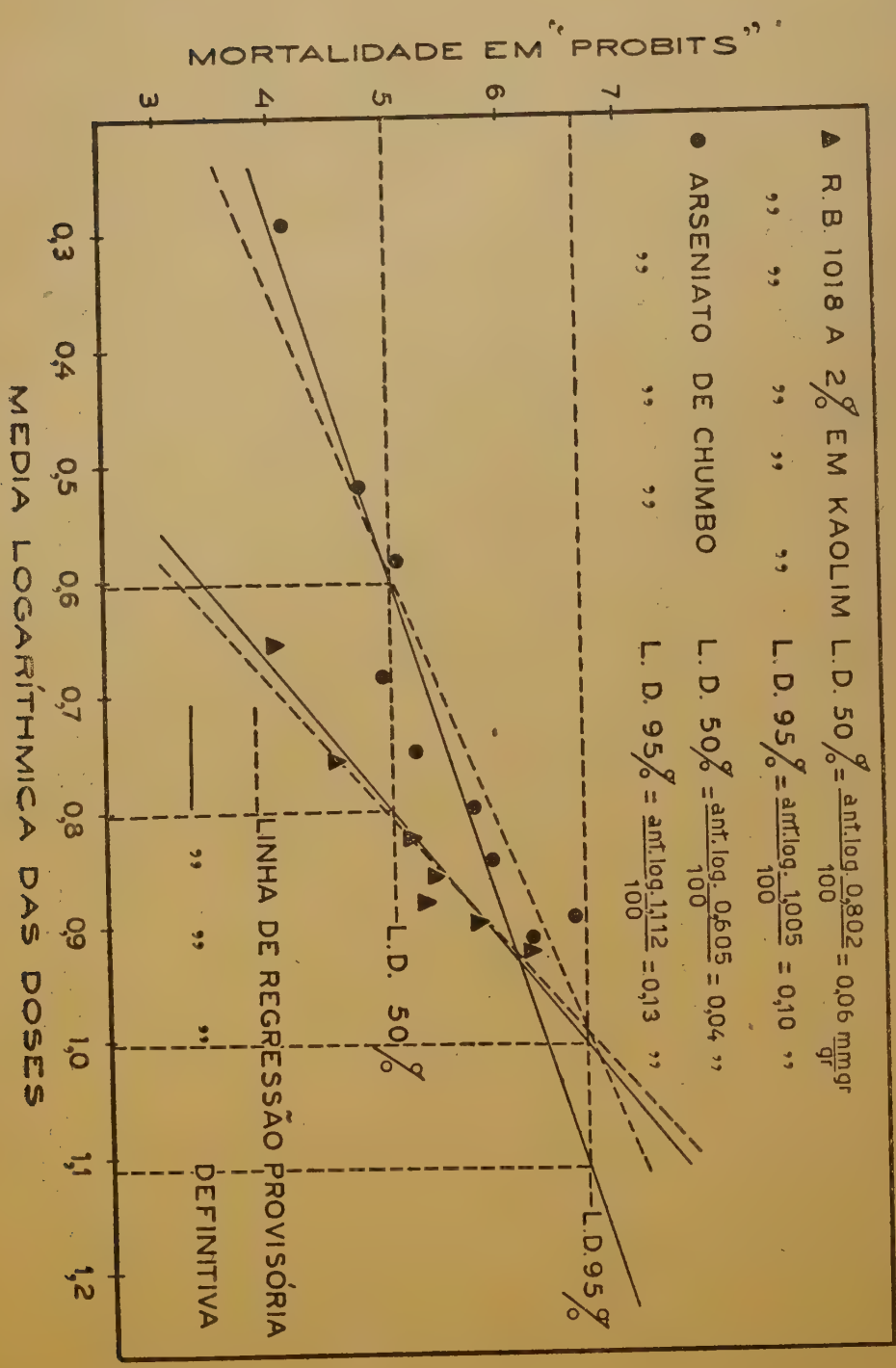
Resultados conseguidos pelos polvilhamentos diréto de lagartas de *Alabama argillacea* (Curuquerê do algodoeiro) com o R. B. 1018 em diferentes diluições.

Concentração em R. B. 1018	N.º de lagartas	Observ. após (24 horas)	N.º de mortos (48 hs.)	% de mortalidade (48 hs.)
1:3.200	10	9 v. 1 i.	0	0
1:1.600	10	8 v. 2 i.	0	0
1:800	10	1 i. 2 fort. int. 7 m.	9	90,0

Nota: v. — vivo, i. — intoxicado, m. — morto, fort. int. — fortemente intoxicado.

b) — Ingestão — Por meio da torre de polvilhamento (Estampa 1 a), preparando-se doses conhecidas do produto absorvido em kaolim a 2%, verificamos que a dose letal mediana do R.B.1018 nessas condições é aproximadamente de 0,06 mmgr por grama de inseto. Pelo grafico 1 podemos verificar que esse novo inseticida a 2% é tão tóxico quanto o arseniato de chumbo puro, o que quer dizer que o R.B.

GRAFICO 1



1018 é 50 vezes mais tóxico para o curuquerê que aquele composto arsenical.

c — Ensaio de campo — Em cultura de algodoeiro localizada na Fazenda Rio das Pedras, no município de Campinas, bastante infestada pelo “curuquerê”, realizamos os primeiros ensaios de campo. Separamos 9 lótes, com 20 a 25 plantas bem formadas, em cada um. Cada lote foi rodeado por valeta de cerca de 30 cm de profundidade e recebeu perto de 200 lagartas, além das já existentes, e em diversos estadios de desenvolvimento, pertencendo a maioria aos últimos “instars”. Nessas experiências o R.B.1018 foi aplicado por via úmida e sob duas formas: emulsão e suspensão do produto absorvido em kaolim. As diluições e os principais resultados estão reunidos na tabela 4, onde podemos verificar os ótimos resultados obtidos pela aplicação desse novo produto no campo, em quaisquer das formas empregadas, o que, aliás, veio confirmar as experiências realizadas no laboratório.

TABELA 4

Resumo dos resultados obtidos pelas aplicações do R. B. 1018 no campo para controle do “curuquerê” do algodoeiro, *Alabama argillacea*.

Tratamento	Concentração em R. B. 1018	N.º total de lagartas	Observ. após 24 hs. da aplicação			% de		% total de afetados
			V.	M.	L.	M.	L.	
Emulsão R. B. 1018	1:10.000	218	0	216	2	99,1	0,9	100,0
	1:20.000	176	2	171	3	97,1	1,7	98,0
	1:30.000	103	4	94	5	91,4	4,8	96,1
	1:40.000	150	5	127	18	84,6	12,0	96,6
	1:60.000	171	12	111	48	63,1	28,0	92,9
	1:80.000	173	10	156	7	90,1	4,0	95,3
Suspensão R. B. 1018	1:10.000	249	0	249	0	100,0	0	100,0
	1:20.000	194	0	193	1	99,4	0,5	100,0
Testemunha		192	188	4	0	2,1	0	2,1

Nesses ensaios a ação do inseticida parece ter-se processado mais por contato do que por ingestão, devido à rapidês da sua atividade. Assim, com a concentração de 1/20.000 (Emulsão) aplicada às 15,45 hs de 15-4-47, já às 17,00 hs desse dia o lote apresentava alta porcentagem de afetados, facilmente observados porque estavam caídos ao sólo, apresentando sintomas típicos de intoxicação.

Nas observações feitas depois de 24 e 48 hs, com as duas concentrações mais fortes (Emulsão e Kaolim), não notámos prejuízos causados às plantas pulverizadas pelo inseticida. Finalmente, pudemos ainda verificar que a ação do inseticida é também extensiva a espécies de dípteros, provavelmente parasitas do “curuquerê”, a duas espécies de percevejos e a um gafanhoto, não muito comuns nos algodoads visitados.

TABELA 5

Resultados obtidos com as pulverizações diretas de afídeos do algodoeiro — *Aphis gossypii*, com o R. B. 1018, emulsionado.

Concentração em R. B. 1018	N.º de Afídeos	N.º de mortos (24 hs)	% de mortali- dade (24 hs)
1:20.000	54	54	100,0
	61	61	100,0
1:35.000	49	48	97,9
	51	51	100,0
1:50.000	69	65	94,2
	84	84	100,0
1:75.000	71	54	76,0
	62	53	85,4
1:100.000	59	49	83,0
	65	59	90,9
Testemunha	58	6	10,3
	45	17	37,7

2) — **Pulgão do algodoeiro** — *Aphis gossypii* GLOVER — Grupos contendo de 45 a 84 afídeos, de todas as idades, foram colocados em caixas de Petri forradas com papel de filtro, e pulverizados por meio da torre (Estampa 1 c) com 5cc da emulsão em concentrações variando de 1/20.000 a 1/100.000. Depois de pulverizados, os afídeos eram colocados juntamente com folhas de algodoeiro, em caixas de Petri de maiores dimensões. Os resultados acham-se na tabela 5, onde se pôde verificar que esse inseto mostrou-se bem sensível ao produto, pois com a concentração de 1/100.000 verificou-se mortalidade bastante alta.

Empregando o produto sob a forma de polvilhamento, em concentrações que variavam de 1/1.000 a 1/16.000, com o depósito médio de 0,1 mmgr de pó por cm², o que foi conseguido por meio

da torre de polvilhamento (Estampa 1 *a*), os resultados foram também bastante interessantes, em confronto com o gammexane e o sulfato de Nicotina absorvido em cal virgem, conforme pôde ser visto na tabela 6.

Emquanto na concentração de 1/100, tanto o "gammexane" como a Nicotina determinaram uma porcentagem de mortalidade respectivamente de 83,1 e 99,6 depois de 48 hs, o R.B.1018, a 1/2.000, deu uma porcentagem média de mortalidade de 96,5 no fim do mesmo tempo.

TABELA 6

Resumo comparativo dos resultados obtidos pelos polvilhamentos com R. B. 1018, Gammexane e Sulfato de Nicotina, contra afídeos do algodoeiro — *Aphis gossypii*.

Inseticida	Concentração em princípio ativo	N.º de Afídeos	N.º de mortos (48 hs)	% de mortalidade (48 hs)
R. B. 1018	1:1.000	55	51	92,7
		226	225	99,5
	1:2.000	249	240	96,3
		247	239	96,7
	1:4.000	144	102	70,8
		226	155	68,5
		154	119	77,2
	1:8.000	134	91	67,9
	1:16.000	189	44	23,2
Gammexane (Isomero Gama do Hexacloro benzeno)	1:100	333	277	83,1
	1:200	301	287	95,3
		171	121	70,7
Sulfato de Nicotina	1:100	178	277	99,6
	1:400	214	203	94,8
	1:1.000	147	106	72,1
Testemunha	—	306	12	3,9
		277	16	5,7

Neste ensaios, folhas de algodoeiro contendo determinado número de afídeos, eram colocadas na torre de polvilhamento, e depois do tratamento, sobre plantas de algodão em vaso. Afim de impedir

TABELA 7

Determinação da eficiência do R. B. 1018 sob a fórmula de emulsão, de preparação recente, quando pulverizado em caules de algodoeiro posteriormente infestados com adultos de *Eutinobothrus brasiliensis* (Bróca do algodoeiro).

Concentração em R. B. 1018	N.º de insetos	Observação após			Porcentagem final de mortalidade
		24 horas	48 horas	72 horas	
1:2.500	10	1 v.	10 m.	10 m.	100,0
		3 i.			
		6 m.			
	10	1 v.	10 m.	10 m.	100,0
		2 i.			
		7 m.			
1:5.000	10	3 v.	10 m.	10 m.	100,0
		3 i.			
		4 m.			
	10	2 v.	10 m.	10 m.	100,0
		3 i.			
		5 m.			
1:10.000	10	3 v.	1 i.	10 m.	100,0
		4 i.	9 m.		
		3 m.			
	10	5 v.	2 i.	10 m.	100,0
		3 i.	8 m.		
		2 m.			
1:20.000	10	5 v.	4 i.	10 m.	100,0
		3 i.	6 m.		
		2 m.			
	10	6 v.	3 i.	10 m.	100,0
		3 i.	7 m.		
		1 m.			
Testemunha	10	9 v.	3 m.	3 m.	30,0
		1 m.	7 v.	7 v.	
	—	10 v.	10 v.	10 v.	0

a fuga dos insetos, o vaso era colocado no centro de uma tampa de cristalizador, em cujos bordos passavamos uma camada de diethyl-phthalato. Com esta técnica, reduzido número de afídeos se perdeu.

TABELA 8

Determinação da eficiência do R. B. 1018 sob a fórmula de emulsão, de preparação antiga, quando pulverizado em caules de algodoeiro posteriormente infestados com adultos de *Eutinobothrus brasiliensis* (bróca do algodoeiro).

Concentração em R. B. 1018	N.º de insetos	Observação após			Porcentagem final de mortalidade
		24 horas	48 horas	72 horas	
1:2.500	5	1 v. 4 m.	1 i. 4 m.	5 m.	100,0
	5	1 v. 4 m.	5 m.	5 m.	100,0
	5	1 v. 4 m.	5 m.	5 m.	100,0
	10	5 v. 3 i. 2 m.	1 v. 3 i. 6 m.	10 m.	100,0
1:5.000	5	3 i. 2 m.	5 m.	5 m.	100,0
	5	3 v. 2 i.	2 v. 3 m.	1 i. 4 m.	80,0
	5	3 i. 2 m.	5 m.	5 m.	100,0
	10	7 v. 2 i. 1 m.	3 v. 2 i. 5 m.	1 i. 9 m.	90,0
	10	6 v. 2 i. 2 m.	3 v. 3 i. 4 m.	10 m.	100,0
1:10.000	5	1 i. 5 v.	1 i. 4 m.	5 m.	100,0
	5	3 v. 1 i. 1 m.	1 v. 4 m.	5 m.	100,0
	5	3 v. 1 i. 1 m.	1 v. 4 m.	5 m.	100,0
	10	8 v. 1 i. 1 m.	5 v. 3 i. 2 m.	3 i. 7 m.	70,0
	10	7 v. 2 i. 1 m.	1 v. 3 i. 2 m.	1 v. 1 i. 8 m.	80,0
1:20.000	10	9 v. 1 i.	6 v. 3 i. 1 m.	2 v. 2 i. 6 m.	60,0
	10	2 i. 8 v.	2 i. 8 v.	2 i. 8 v.	20,0
Testemunha	10	10 v.	10 v.	10 v.	0
	10	10 v.	10 v.	10 v.	0
	10	10 v.	10 v.	10 v.	0

3) — **Bróca do algodoeiro** — *Eutinobothrus brasiliensis* (HAMBL.) — Estacas de algodoeiro, de 20 cm de comprimento, foram pulverizadas por meio de um pulverizador manual com a emulsão preparada na ocasião da aplicação, em concentração que variava de 1/2.500 a 1/20.000, gastando-se 5cc de líquido para cada 3 estacas. Depois de secas, foram elas colocadas em areia úmida (estampa 2, fig. B) e protegidas por uma manga de vidro.

TABELA 9

Resultados obtidos com as pulverizações de R. B. 1018 sob a fórmula de emulsão, de preparação antiga, em caules de algodoeiro reinfestados com adultos de *Eutinobothrus brasiliensis* — (Bróca do algodoeiro) 6 dias depois do tratamento.

Concentração em R. B. 1018	N.º de insetos	Observações após					% final de mortalidade
		24 hs	48 hs	72 hs	96 hs	144 hs	
1:2.500	10	9 v. 1 m.	1 v. 5 i. 4 m.	1 v. 3 i. 6 m.	3 i. 7 m.	1 i. 9 m.	90,0
	10	8 v. 2 i.	5 v. 2 i. 3 m.	3 v. 3 i. 4 m.	1 v. 3 i. 6 m.	10 m.	100,0
	10	7 v. 3 i.	4 v. 2 i. 4 m.	2 v. 3 i. 5 m.	1 v. 2 i. 7 m.	10 m.	100,0
1:5.000	9	7 v. 2 i.	3 v. 3 i. 3 m.	2 v. 3 i. 4 m.	1 v. 1 i. 7 m.	9 m.	100,0
	10	8 v. 2 i.	5 v. 2 i. 3 m.	3 v. 2 i. 5 m.	1 v. 2 i. 7 m.	2 i. 8 m.	80,0
	10	8 v. 2 i.	5 v. 3 i. 2 m.	4 v. 3 i. 3 m.	1 v. 2 i. 7 m.	1 i. 9 m.	90,0
1:10.000	10	9 v. 1 i.	3 v. 5 i. 2 m.	3 v. 4 i. 3 m.	3 v. 3 i. 4 m.	2 v. 2 i. 6 m.	60,0
	10	10 v.	6 v. 3 i. 1 m.	5 v. 3 i. 2 m.	5 v. 2 i. 3 m.	4 v. 2 i. 4 m.	40,0
	10	10 v.	5 v. 3 i. 2 m.	4 v. 3 i. 3 m.	4 v. 2 i. 4 m.	2 v. 2 i. 6 m.	60,0
Testemunha	20	20 v.	20 v.	20 v.	20 v.	2 m. 18 v.	20,0

Cada estaca foi infestada com 5 ou 10 adultos, e as mortalidades anotadas depois de 24, 48 e 72 horas. Foram feitas 2 repetições para cada concentração, e os resultados acham-se na tabela 7.

O mesmo ensaio foi repetido, usando-se porem o concentrado para emulsão preparado havia cerca de um mês.

Pela tabela 8, que contem os dados deste ensaio, verificamos que, enquanto, no primeiro caso, com uma concentração de 1/20.000 obtivemos 100% de mortalidade, depois de 72 horas, permitindo portanto maiores diluições, no segundo caso, nessa concentração e depois do mesmo tempo, foi observada uma média apenas de 40%. Repetiu-se, dessa maneira, o que já havia sido constatado nos ensaios com o "curuquerê" do algodoeiro. A ação residual foi analisada simplesmente reinfestando-se as mesmas estacas utilizadas no ensaio resumido na tabela 8, seis dias depois de pulverizadas.

Pela tabela 9 pôde-se vêr que, apesar de menor, houve certa atividade: neste caso a concentração, para matar 90%, subiu de 1/10.000 a 1/5.000, e num tempo maior. Se compararmos todos esses dados com os obtidos por SAUER (7) em que o inseticida mais ativo foi o arseniato de cálcio, verifica-se que o R.B.1018 é muito mais tóxico para este coleóptero.

TABELA 10

Resultados conseguidos com as pulverizações diréttas de R. B. 1018, sob a fórmula de emulsão, em adultos de *Eutinobothrus brasiliensis* — (Bróca do algodoeiro).

Concentração em R. B. 1018	N.º de insetos	Observ. após 24 horas	N.º de mortos 72 horas	% de mortalidade (72 hs)
1:2.500	10	6 v. 2 i. 2 m.	3	30,0
1:5.000	10	10 v.	0	0
1:10.000	10	10 v.	0	0
Testemunha	10	10 v.	0	0

Numa concentração de 1/200 e 1/125, para o caso desse arsenical, foram necessárias 240 e 144 hs, respectivamente, para a obtenção de 100% de mortalidade.

Para constatar se a atividade do R.B.1018 era ou não de contáto, outros ensaios foram realizados com esse mesmo inseto. A técnica utilizada, para um caso, já foi descrita por nós em outro trabalho (5) e consistiu em ativar placas de vidro com meio cc da

emulsão a 1/5.000 e 1/10.000, e colocar os insetos entre essas placas. Noutro caso, lótes de 10 insetos adultos eram pulverizados com a emulsão, usando-se a mesma técnica empregada no teste com o “curuquerê”, e depois colocados em estacas não tratadas. Os resultados acham-se resumidos na tabela 10.

Em ambos os casos a atividade foi muito fraca, revelando que a ação do R.B.1018 sobre esse inseto se exerce principalmente por ingestão.

4) — *Percevejo rajado* — *Horcius nobilellus* (BERG) — Empregando a torre de pulverização (Estampa 1 b), e com a mesma técnica do ensaio 1, lótes de 10 percevejos foram pulverizados com 5 cc de emulsão em concentrações que variavam de 1/10.000 a 1/80.000. Os resultados resumidos na tabela 11 mostram que o inseto é sensível ao R.B.1018. A alta mortalidade observada na testemunha deve-se talvez ao ambiente confinado da placa de Petri, impróprio para o inseto.

TABELA 11

Resultados apresentados pelas pulverizações diretas de R. B. 1018 emulsionado, sobre *Horcius nobilellus* — (Percevejo rajado do algodoeiro).

Concentração em R. B. 1018	N.º de insetos	N.º de mortos (24 hs)	% de mortali- dade (24 hs)
1:10.000	10	8	80,0
1:20.000	9	6	66,6
1:40.000	7	3	42,8
1:80.000	11	0	0
Testemunha	11	5	45,4

Não foram realizados outros ensaios, dada a dificuldade de obter, na época da realização da experiência, insetos em quantidade suficiente. Nóvas observações, com técnica mais adequada são pois necessárias, afim de se conseguirem dados mais precisos.

5) — *Gafanhoto migratório sul-americano* — *Schistocerca cancellata* (SERV.) — Adultos deste inseto foram

tratados com 0,5 gr de pó nas concentrações de 1/50 a 1/3.200 por meio do dispositivo da estampa 2, fig. A.

Utilizamos-nos também de emulsões, e neste caso os insetos eram encerrados em gaiolas de telas e pulverizados com pequenos pulverizadores de mão, gastando-se para cada aplicação 10cc de líquido. Em ambos os casos os gafanhotos, depois de tratados, eram colocados em gaiolas com abundante alimentação. A tabela 12 resume os resultados obtidos, e aí podemos ver que o R.B.1018 é muito mais tóxico do que o “666”, dinitro-orto-cresol e dinitro fenol, lar-

TABELA 12

Resultados conseguidos pelas aplicações de R. B. 1018 sob as formas de emulsão e polvilhamento para verificação de sua ação de contato sobre *Schistocerca cancellata* — (Gafanhoto migratório sul-americano).

Concentração em R. B. 1018	Tratamento	N.º de insetos	Tempo para produzir 100% de mortalidade (horas)	N.º de mortos (48 hs.)	% de mortalidade (48 hs.)
1:250	Pulverização (Emulsão)	4	2,45	4	100,0
1:5.000		5	8,10	5	100,0
1:10.000		5	48,00	5	100,0
1:20.000		10	—	9	90,0
1:40.000		10	—	0	0
Concentração em R. B. 1018	Tratamento	N.º de insetos	Observação após 24 horas	N.º de mortos (48 hs.)	% de mortalidade (48 hs.)
1:50	POLVILHAMENTO	10	10 m.	10	100,0
1:100		10	10 m.	10	100,0
1:200		10	10 m.	10	100,0
1:400		10	1 v. 9 i.	9	90,0
1:800		10	10 v.	4	40,0
1:1.600		10	10 v.	0	0
1:3.200		9	9 v.	0	0
Testemunha	—	10	10 v.	0	0

gamente usados no combate a essa praga, nas concentrações de 1/20 para o primeiro e 1/10 para os demais. Nas mesmas condições, o R.B.1018 determinou mortalidade de 100% nas concentrações de 1/400 e 1/20.000, respectivamente em polvilhamento e pulverização.

6) — *Vaquinha da batatinha* — *Epicauta* spp. — Empregando-se a mesma técnica do ensaio anterior, relativa à

pulverização, lótes de adulto deste inséto foram pulverizados com 5cc da emulsão em concentrações que variavam de 1/1.250 a 1/80.000. Pela tabela 13, que resume os resultados obtidos neste ensaio, verifica-se que este coleóptero é bem sensível à ação do R.B.1018. Mesmo na concentração de 1/80.000 foi obtida alta porcentagem da mortalidade, em tempo bastante curto.

TABELA 13

Resumo dos resultados conseguidos pelas pulverizações diréttas de adultos de *Epicauta* spp. (vaquinhas da batata) com a emulsão de R. B. 1018 em diferentes diluições.

Concentração em R. B. 1018	N.º de inséto	N.º de mortos ou fortemente intoxicados após 8 horas	Porcentagem de mortalidade após 8 horas
1:1.250	19	19	100,0
1:2.500	22	22	100,0
1:5.000	20	20	100,0
1:10.000	21	21	100,0
1:20.000	23	23	100,0
1:40.000	23	23	100,0
1:80.000	25	19	76,0
Testemunha	25	0	0

7) — *M a n d a r o v á d a m a n d i ó c a* — *Erinnyis ello* (L.) — Empregando a mesma técnica de pulverização do ensaio 1, reduzido número de lagartas no último “instar”, desta mariposa, mostraram-se excepcionalmente resistentes ao R.B.1018. É provável que, como acontece com o D.D.T. em relação a este inséto, apenas as formas mais jovens sejam sensíveis. A tabela 14 resume os resultados deste ensaio.

8) — *L a g a r t a d a c o u v e* — *Ascia monuste orseis* (GODART) — Com técnica para pulverização semelhante à empregada no ensaio 1, esta lagarta mostrou-se um pouco mais resistente do que o “curuquerê”. Entretanto, pela tabela 15 póde-se verificar que é bem sensível à ação do R.B.1018.

9) — *L a g a r t a d o s m i l h a r a i s e c a p i n z a i s* — *Mocis repanta* (FABR.) — Em condições idênticas às do ensaio anterior, esta lagarta mostrou-se regularmente resistente ao produto, comparados os resultados, que se acham na tabela 16, com os obtidos com inséto altamente sensíveis. Assim é que apenas na con-

centração da emulsão a 1/1.250 é que se conseguiu mortalidade de 100%.

10) — Caruncho do milho — *Sitophilus oryza* (L.) — Empregando o produto absorvido em Kaolim a 2%, foi feita a mistura dele com 200 gr de milho nas proporções de 1/1.000, 1/2.000 e 1/5.000 em relação ao peso dos grãos, o que corresponde a 0,02,

TABELA 14

Resultados obtidos pelas pulverizações de lagartas de *Erinnyis ello* (Mandarová da mandioca) com o R. B. 1018 emulsionado.

Concentração em R. B. 1018	N.º de lagartas	N.º de mortos em 48 horas
1:5.000	4	0
1:2.500	4	0

0,01 e 0,005 gr respectivamente de principio ativo por quilo do cereal. O milho tratado foi colocado em frascos de vidro e infestado com 100 carunchos, fazendo-se observações depois de 24 e 48 horas.

Pela tabela 17 verifica-se que o inseto foi bem sensível. Depois de 12 dias, esse mesmo milho foi reinfestado com 100 carunchos e, embora com menos intensidade, o R.B.1018 mostrou-se bastante ativo.

TABELA 15

Resultados obtidos pelas pulverizações diretas de R. B. 1018 emulsionado, sobre lagartas de *Ascia monuste orseis* (Lagarta da couve).

Concentração em R. B. 1018	N.º de lagartas	Tempo necessário para produzir 100% de mortalidade (horas)	N.º de mortos (48 hs)	% de mortalidade (48 hs)
1:1.250	10	6,00	10	100,0
1:2.500	10	26,55	10	100,0
1:5.000	10	26,50	10	100,0
1:10.000	10	—	9	90,0
1:20.000	10	—	9	90,0
1:40.000	10	—	8	80,0
1:80.000	10	—	4	40,0

11) — Mosca do Mediterraneo — *Ceratitis capitata* (WIED.) — Dois tipos de ensaios foram realizados com esta mosca:

a) — Contáto — Em placas ativadas, já referidas no ensaio 3, adultos foram deixados em contáto com o R.B.1018 emulsionado, por tempo que variou de 1, 2, 4 e 8 minutos, nas concentrações de 1/2.500 e 1/5.000.

TABELA 16

Resultados obtidos pelas pulverizações diretas de R. B. 1018 emulsionado, sobre lagartas de *Mocis repanda* (Curuquerê dos milharais e capinzais).

Concentração em R. B. 1018	N.º de lagartas	Tempo necessário para produzir 100% de mortalidade (horas)	N.º de mortos (48 hs.)	% de mortalidade (48 hs.)
1:1.250	10	25,20	10	100,0
	15	—	15	100,0
1:2.500	10	40,35	10	100,0
	15	—	10	66,6
1:5.000	10	—	6	60,0
	15	—	3	20,0
1:10.000	10	—	4	40,0
	15	—	0	0
1:20.000	10	—	3	30,0
	15	—	0	0
1:40.000	10	—	2	20,0
	15	—	0	0
Testemunha	10	—	0	0
	15	—	0	0

Em cada placa foi distribuído por meio de uma pipeta 1/2 cc de emulsão. Para 1/2.500, conforme mostra a tabela 18, foram observados 100% de mortalidade depois de 20, 15, 12 e 9 minutos, respectivamente, correspondendo ao tempo de contáto. Para 1/5.000, o contáto de 1 minuto determinou 100% de mortalidade depois de 100 minutos.

Ainda com esse mesmo fim realizamos, por meio da torre, em condições iguais às do ensaio 1, pulverização direta sobre as moscas encerradas em caixas de Petri, cobertas de t la de malha fina. Nestas condições, o R.B.1018 mostrou-se fortemente ativo (Tab. 19),

pois na concentração de 1/160.000 determinou 100% de mortalidade depois de 12 horas.

b) — Ingestão — Para este tipo de ensaio foi feita uma solução de mel de abelha a 50%, e nele incorporado o concentrado para emulsão, em diluições que variavam de 1/12.500 a 1/200.000. Por meio de um pincel, as soluções contendo o tóxico eram distribuídas dentro de tubos de vidro de boca larga, sob a forma de tiras estreitas; nesses vidros eram colocadas as moscas, iniciando-se as observações logo a seguir. Pela tabela 20 pôde-se verificar que o R.B.1018, nestas condições, também se revelou um tóxico violento, determinando a morte do inseto em período bastante curto, e em concentrações da ordem 1/200.000.

TABELA 17

Resultados colhidos pelo tratamento de grãos de milho misturando-os com um pó contendo 2% de R. B. 1018 em diferentes proporções, afim de protegê-lo contra o ataque de *Sitophilus oryza* (caruncho do milho).

Concentração em R. B. 1018	N.º de insetos	Tempo necessário para produzir 100% de mortalidade (horas)	N.º de mortos (48 horas)	Porcentagem de mortalidade (48 horas)
1:1.000	100	24,0	100	100,0
1:2.000	100	24,0	100	100,0
1:5.000	100	—	73	73,0
Testemunha	100	—	0	0

12) — Formiga saúva — *Atta sp.* — Apenas para constatação de toxidês, grupos de 30 formigas foram polvilhados com o R. B. 1018 diluído em talco nas seguintes concentrações: 1/1.000, 1/2.000 e 1/5.000. As porcentagens de mortalidade observadas conforme a tabela 21, foram respectivamente de 100% e 50% depois de 15 horas.

13) — Outros insetos — No decorrer dos ensaios com a Mosca do Mediterrâneo tivemos oportunidade de verificar que também a Mosca Preta das Frutas — *Lonchea pendula* BEZZI, é bem sensível ao R. B. 1018; assim é que, por pulverização direta da emulsão a 1/80.000, verificamos 100% de mortalidade após 12 horas.

Também com relação à mosca comum — *Musca domestica* L. — verificamos alta sensibilidade ao composto. Finalmente, em

rápidos testes realizados com baratas caseiras, com o produto diluído em talco e açúcar a 1/4.000, observamos 100% de mortalidade depois de 2 horas. A ação parece ter-se exercido quase exclusivamente por contato.

TABELA 18

Resultados conseguidos com o R. B. 1018 emulsionado e distribuído em placas de vidro posteriormente infestadas com adultos de *Ceratitis capitata* (Mosca do Mediterraneo), para verificação da ação de contato.

Concentração em R. B. 1018	N.º de insetos	Tempo de con- tato nas placas (minutos)	Tempo necessá- rio para produ- zir 100% de mortalidade (minutos)
1:2.500	10	1	20
	10	2	15
	10	4	12
	10	8	9
1:5.000	10	1	100

V — OBSERVAÇÕES PRELIMINARES QUANTO AO MECANISMO DE INTOXICAÇÃO

Nos ensaios realizados com resultados positivos, sempre verificamos que os sintomas de intoxicação apresentam um quadro semelhante às intoxicações pelo D. D. T., embora mais rápidos e violentos. Afim de obter informes mais completos sobre a questão, foi feita uma experiência com adultos da lagarta da couve (*Ascia monuste orseis*), empregando-se o R. B. 1018 e o D. D. T.

Preparamos uma pasta do R. B. 1018 absorvido em Kaolim a 2%, e de D. D. T. a 10% em talco, com pequena quantidade de glicerina.

Empregamos 5 lotes de 10 borboletas, sendo 2 tratados com o R. B. 1018, e 2 com o D. D. T. e um testemunha.

O tratamento consistiu em pincelar com a pasta preparada as antenas e as azas inferiores das borboletas. No caso do R. B. 1018, os insetos do lote que receberam o tratamento nas azas apresentaram sintomas nítidos de intoxicação depois de 18 horas. Esses sintomas resumem-se numa paralisia das patas, que se apresentam com movimentos desordenados, e incapacidade para o vôo, ficando as borboletas com as azas unidas e deitadas. Depois de 48 horas tôdas estavam mortas. Os insetos que receberam o produto nas antenas, depois de 1 hora mostravam-se muito excitados, com movimentos desordenados, e depois de 2 horas já se podia notar

a paralisia completa, como foi descrita no caso anterior. No fim de 48 horas todos os insetos estavam mortos.

Para o D. D. T., os que receberam o inseticida nas azas inferiores não apresentaram sintoma algum nas primeiras 4 horas. Depois desse período, começaram a aparecer os primeiros sinais,

TABELA 19

Resumo dos resultados da pulverização direta de adultos de *Ceratitis capitata* (Mosca do Mediterrâneo) com o R. B. 1018 emulsionado.

Concentração em R. B. 1018	N.º de insetos	N.º de mortos (24 hs.)	Porcentagem de mortalidade (24 hs.)
1:10.000	18	18	100,0
1:20.000	17	17	100,0
1:40.000	17	17	100,0
1:80.000	20	20	100,0
1:160.000	16	16	100,0
1:320.000	19	1	5,2
Testemunha	22	1	4,5

e depois de 48 horas todos estavam fortemente intoxicados, porém não mortos, como aconteceu no caso do R. B. 1018. O quadro sintomatológico foi semelhante, porém mais lento.

A ação do D. D. T. nas antenas foi um pouco mais rápida do que no caso anterior, pois nas primeiras 4 horas cerca de 50% dos insetos apresentava sinais leves de intoxicação. Depois de 48 horas 9 estavam fortemente intoxicados e um completamente normal.

Poderão ser feitas aqui, portanto, as mesmas considerações que LAUGER, MARTIN e MÜLLER fazem em seu trabalho (4) — “Cons-

titucion y accion tóxica de los modernos inseticidas” — onde aliás se trata de uma série de derivados orgânicos do fósforo até certo ponto semelhantes ao R. B. 1018. Entretanto, mais trabalhos devem ser feitos, afim de ficar melhor conhecida a questão.

TABELA 20

Resultados obtidos com o emprego do R. B. 1018 emulsionado e em mistura com mel e oferecido a adultos de *Ceratitis capitata* — (Mosca do Mediterrâneo) como alimentação.

Concentração em R. B. 1018	N.º de insetos	Observação após			
		25 minutos	55 minutos	2 a 2,30 horas	16 horas
1:12.500	21	4 v. 8 i. 9 m.	2 i. 19 m. —	— — —	— — —
	20	—	—	3 v. 17 m.	20 m.
1:25.000	20	6 v. 8 i. 6 m.	— 9 v. 11 m.	— — —	— — —
	20	— — —	— — —	3 v. 2 i. 15 m.	— 20 m. —
1:50.000	20	6 v. 8 i. 6 m.	— 6 v. 14 m.	— — —	— — —
	20	— — —	— — —	3 v. 4 i. 13 m.	— 20 m. —
1:100.000	20	— — —	— — —	14 v. 2 i. 4 m.	— 20 m. —
1:200.000	20	— — —	— — —	17 v. 1 i. 2 m.	— 3 v. 17 v.
Testemunhas	20	20 v.	20 v.	—	—
	17	—	—	17 v.	17 v.

VI — ENSAIO DE FITOTOXIDÊS

Estas expriências consistiram simplesmente na pulverização, com a emulsão a 1/5.000, de diversas espécies de plantas, em campo aberto, e as observações feitas depois de 48 horas. Durante esse período não houve precipitação aquosa; as plantas estiveram sob a ação de intenso sol durante os dias da experiência. Nenhuma lesão foi observada nas plantas, que eram as seguintes: Batatinha (*Solanum tuberosum* L.), Algodoeiro (*Gossypium* spp.), Mandioca (*Manihot utilissima* POHL), Kudzú (*Pueraria thunbergiana* (SIEB. et ZUCC.) BENTH),

TABELA 21

Resultados colhidos com o polvilhamento de R. B. 1018 absorvido em talco, sobre *Atta* sp. (Formiga saúva).

Concentração em R. B. 1018	N.º de formigas	Observação após 1 hora de aplicação	N.º de mortos (15 horas)	Porcentagem de mortalidade (15 horas)
1:1.000	30	29 m. 1 v.	30	100,0
1:2.000	30	20 m. 10 v.	30	100,0
1:5.000	30	3 m. 27 v.	15	50,0

VII — TOXIDÊS AOS ANIMAIS

Com o objetivo de simplesmente constatar quais as possibilidades de intoxicação pelo R. B. 1018, quando manuseado como inseticida, realizamos uma série de ensaios com cobaias, referentes à ingestão, contáto dirêto com a pele e inalação.

a) — Ingestão — Empregamos uma emulsão do produto a 1/5.000, que em quantidades variadas era injetada no estômago da cobaia por meio de uma sonda. Para um grupo de cobaias (tabela 22) eram administrados 2 cc diariamente, ao passo que em outra experiência (tabela 23), cada dois dias a quantidade de emulsão era duplicada.

No primeiro caso, depois de um período de mais de dois meses, tendo cada cobaia ingerido um total de 134 cc de emulsão, correspondendo a 0,0268 cc de princípio ativo, não observamos sintoma algum de intoxicação, tendo-se os animais desenvolvido normalmente, como pode ser aferido pelo seu peso depois desse período. No segundo caso, entretanto, as cobaias morreram, de-

pois de terem tomado um total de 28 a 60 cc correspondendo de 0,12 cc de princípio ativo, o que equivale a 0,19 cc — 0,39 cc por quilo.

O exame anátomo-patológico, feito pelo Dr. JUVENAL MEYER, da Secção de Anatomia Patológica, revelou uma pneumonia hemorrágica e lesões discretas nas vísceras.

TABELA 22

Resumo dos resultados conseguidos pela administração, a cobaias, de doses diárias de 2 cc de uma emulsão de R. B. 1018 a 1:5.000.

Cobaia N.º	Peso inicial em gramas	Quantidade total inge- rida, por cobaia, após 20 dias em cc		Peso após o 20.º dia de aplica- ção em gramas	Quantidade total inge- rida, por cobaia, após 67 dias em cc		Peso após o 67.º dia de aplica- ção em gramas
		Emulsão	Princípio ativo		Emulsão	Princípio ativo	
2	304	40	0,008	341	134	0,0268	386
4	310	40	0,008	340	134	0,0268	372
6	310	40	0,008	344	134	0,0268	371
8	293	40	0,008	330	134	0,0268	366
10	296	40	0,008	320	134	0,0268	370

5 cobaias testemunhas — normais.

b) — Contato direto com a pele — Para esta experiência foi empregada a emulsão concentrada contendo 4% de princípio ativo. Por meio de um pincel embebido na emulsão, era feito um esfregão na região abdominal de cada cobaia, previamente raspada. Depois de 1 a 10 dias, variando de animal para animal, tôdas morreram, e o exame anátomo-patológico revelou o quadro já descrito.

c) — Inalação — 12 cobaias, sendo 6 machos e 6 fêmeas, foram encerradas em um quarto de 17,4m³, a metade previamente raspadas em diversas regiões do corpo e as outras conservadas intactas. Diariamente, pulverizavam-se 200 cc de uma emulsão a 1/5.000, tendo-se o cuidado de retirar a alimentação cada vez que se pulverizava. Depois de 14 dias morreu uma cobaia, e o exame anátomo-patológico revelou atelectasia pulmonar asfíxica, e vísceras normais. Tôdas as outras não apresentaram sintomas de intoxicação até 33 dias depois de iniciada a experiência.

Em ambiente bastante confinado (cuba de vidro fechada), foi colocada uma cobaia juntamente com 3 cc do produto puro. Depois

de 10 minutos apareceram os primeiros sintomas, que consistiam principalmente em tremores das patas. Depois de 25 minutos, morreu.

Esse teste foi repetido, porem com a cuba de vidro aberta. Aos 10 minutos iniciaram-se os tremores e depois de 40 minutos a cobaia foi retirada e levada para ambiente normal, onde morreu depois de 40 horas. Estas ligeiras observações mostram que o produto é tóxico, porem em concentração bem mais elevada do que quando usado como inseticida. É claro que certos cuidados deverão ser tomados, o que aliás acontece com todos os inseticidas conhecidos.

TABELA 23

Resumo dos resultados conseguidos pela administração, a cobaias, de doses progressivas de uma emulsão de R. B. 1018 a 1:5.000.

Cobaia N.º	Peso em gramas	Número e doses diárias aplicadas em cc									Quantidade total ingerida por cobaia em cc	
		1.ª	2.ª	3.ª	4.ª	5.ª	6.ª	7.ª	8.ª	9.ª	Emul- são	Prin- cípio ativo
1	325	2	2	4	4	8	8	16	16	x	60	0,012
3	305	2	2	4	4	8	8	16	16	x	60	0,012
5	300	2	2	4	4	8	8	16	x		44	0,009
7	300	2	2	4	4	8	8	16	x		44	0,009
9	310	2	2	4	4	8	8	x			28	0,006

5 cobaias testemunhas — normais. O sinal x indica o dia da morte das cobaias.

Para confirmação das nossas experiências de campo descritas no ensaio 1, cerca de 3 alqueires de culturas de algodão foram tratados pelo processo comum de pulverização, com emulsão a 1/20.000, e nenhum dos operários sentiu efeito algum tóxico, do produto. Além disso, esses dados bastante preliminares pareceram indicar que o R. B. 1018 é eliminado com certa facilidade pelo organismo, o que se pode observar, por exemplo, se compararmos os dados da tabela 22 com os da 23.

VIII — RESUMO

Foi constatada a ação inseticida do R. B. 1018 — um derivado orgânico do fósforo — para diferentes espécies de insetos. Acha-

se referidos na tabela 24 os insetos determinados como sensíveis ao produto, a forma em que ele foi aplicado, e as respectivas concentrações mínimas eficientes em condições de laboratório, e em um caso apenas (curuquerê do algodoeiro), no campo.

Alguns insetos como *Lonchaea pendula* BEZZI (mosca preta das frutas), Mosca doméstica e barata caseira, não estão referidas na tabela, pois os testes realizados foram muito reduzidos, indicando apenas que essas espécies são bem sensíveis ao produto. Excluídos também estão os ensaios com larvas de *Erinnyis ello* (L.) — (Mandarová da mandioca), no último "instar", por se terem eles mostrado resistentes em teste por contato.

A ação inseticida exerce-se tanto por contato como por ingestão. É interessante destacar que os principais insetos que atacam o algodoeiro no Estado de São Paulo são sensíveis a maiores ou menores concentrações do R. B. 1018, o que provavelmente o tornará de excepcional importância no controle das pragas dessa cultura em nosso meio.

Outra praga de considerável interesse para a agricultura, o gafanhoto migratório sul-americano (*Schistocerca cancellata*), também se mostrou altamente susceptível ao R. B. 1018.

Nos ensaios preliminares quanto à fitotoxidez realizados sobre as seguintes plantas: Algodão, (*Gossypium* spp.), batata, (*Solanum tuberosum* L.), mandioca, (*Manihot utilissima* POHL) e Kudzu (*Pueraria thunbergiana* (SIEB. et ZUCC.) BENTH.), não observamos prejuízo algum causado pelo R. B. 1018. Com relação à toxidez sobre animais de sangue quente, verificamos em testes com cobaias, que emulsionado e na concentração de 1/5.000, tanto por ingestão como por contato, o R. B. 1018 não se mostrou tóxico. No primeiro caso, eram administrados diariamente 2 cc daquela emulsão por meio de uma sonda, por tempo superior a dois meses e, no segundo caso, 200 cc da mesma emulsão eram pulverizados diariamente em um quarto de 17,4m³, onde permaneceriam as cobaias. Depois de mais de um mês, para o último caso, apenas uma cobaia entre 12 apresentou intoxicação pelo R. B. 1018.

Em concentrações maiores, entretanto, mostrou-se tóxico. Assim é que com a ingestão total de 28 a 60 cc da emulsão, correspondendo a 0,019 cc — 0,039 cc por quilo, no prazo médio de 8 dias, sendo cada dois dias duplicada a quantidade de emulsão administrada inicialmente (2 cc), todas as cobaias morreram.

Esses dados indicam que o R. B. 1018 parece ser eliminado do organismo com relativa facilidade.

Também um concentrado do produto a 4%, sôbre a pele de co-baias, determinou a morte delas. Se tomarmos em consideração, entretanto, sua elevadíssima ação inseticida, acreditamos que o composto poderá ser de grande utilidade no combate às pragas da agricultura, embora reconheçamos que posteriores estudos são necessários, principalmente quanto à aplicação em escalas maiores, no campo.

TABELA 24

Resumo das concentrações mínimas eficientes determinadas nos ensaios com diferentes espécies de insetos.

INSETOS EXPERIMENTADOS	CONCENTRAÇÃO MÍNIMA EFICIENTE <i>Minimum effective concentration</i>			
	Contato <i>Contact</i>		Ingestão <i>Stomach</i>	
	Pulverização <i>Spray</i>	Polvilhamento <i>Dusts</i>	Pulverização <i>Spray</i>	Polvilhamento <i>Dusts</i>
<i>Alabama argillacea</i> (HÜBN.) (curuquerê do algodoeiro) <i>Cotton leafworm</i>	1:20.000 1:30.000 (1)	1:800	—	L. D. 50% — 0,06 L. D. 95% — 0,12 (R. B. 1018 — 2%)
<i>Aphis gossypii</i> (GLOVER) (afídeo do algodoeiro) <i>Cotton aphid</i>	1:50.000	1:2.000	—	—
<i>Eutinobothrus brasiliensis</i> (HAMBL.) (bróca do algo- doeiro) <i>Cotton borer</i>	—	—	1:20.000	—
<i>Horcius nobilellus</i> (BERG) (percevejo rajado do algodoeiro) <i>Cotton bug</i>	1:10.000	—	—	—
<i>Schistocerca cancellata</i> (SERV.) (gafanhoto migratório) <i>Locust migratory</i>	1:20.000	1:400	—	—
<i>Epicauta</i> sp. (vaquinha da batatinha) <i>Potato beetle</i>	1:40.000	—	—	—
<i>Ascia monuste orseis</i> (GODART) (lagarta da couve) <i>Cabbage worm</i>	1:20.000	—	—	—
<i>Mocis repanda</i> (FABR.) (curuquerê dos milharais e capinzais) <i>Army worm</i>	1:1.250	—	—	—
<i>Sitophilus oryza</i> (L.) (caruncho do milho) <i>Rice weevil</i>	—	1:2.000 (2)	—	—
<i>Ceratitidis capitata</i> (WIED.) (mosca do mediterrâneo) <i>Mediterranean Fruitfly</i>	1:160.000	—	1:100.000	—
<i>Atta</i> sp. (Saúva) <i>Leaf-cutting ants</i>	—	1:2.000	—	—

(1) Campo. (2) R. B. 1018 usado a 2% e misturado ao milho na proporção de 1:2.000 em pêso.

R. B. 1018 — A NEW INSECTICIDE

A b s t r a c t

The insecticidal action of R. B. 1018 — a phosphorous organic chemical — for different species of insects, was verified. Table 24 lists the insects which proved to be sensitive to the chemical, the different forms of application, and the minimum effective concentrations under laboratory conditions, and, in the case of the cotton leafworm *Alabama argillacea* (HÜBN.) under fields conditions.

Some insects, such as the black fruitfly (*Lonchaea pendula* BEZZI), the housefly (*Musca domestica* L.) and cockroaches, although very sensitive to R. B. 1018, were submitted to a small number of tests only and therefore have not been included in the table. Contact tests with larvae of the cassava leafworm (*Erinnyis ello* (L.)) in the last instar gave negative results. R. B. 1018 is both a contact and ingestion insecticide.

It is of interest to note that the principal cotton pests in the State of São Paulo are sensitive to the chemical, at different concentrations. This fact makes it a highly promising insecticide in the control of these pests. The South American migratory locust — *Schistocerca cancellata* (SERV.) — has also been found to be very sensitive to R. B. 1018.

In preliminary phytotoxicity tests with cotton (*Gossypium* spp.), potato (*Solanum tuberosum* L.), cassava (*Manihot utilissima* POHL) and kudzu (*Pueraria thunbergiana* (SIEB. et ZUCC.) BENTH.) no injuries were observed when these plants were sprayed with an emulsion at 1/5,000.

Preliminary toxicity tests were also made on guinea pigs. Oral administration of 2 cc, daily, of an emulsion at 1/5,000 during two months did no affect the animals. When 200 cc of the same emulsion were sprayed daily in a room measuring 17.4 m³ in which 12 guinea pigs had been placed, only one animal showed toxic effects, after about one month. R. B. 1018 proved toxic at higher concentrations: ingestion of 28-60 cc of the emulsion during an average of 8 days, the initial quantity, 2 cc, being doubled each day, killed all animals. Those amounts correspond to 0.019 — 0.039 cc per kilogram of body weight. When applied directly to the skin, at 4% concentration, the chemical was lethal to guinea pigs.

In conclusion these tests show that R. B. 1018 holds considerable promise for controlling several important plant pests, but further researches are necessary, especially in the field.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — BLISS, C. I. — 1938 — The Determination of the Dosage-Mortality Curve from small numbers. *Quart. Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 7: 192-216.
 - 2 — COURRY, T. e G. RANZANI — 1945 — Efeitos do arsênico sobre a cultura do algodoeiro em terra arenosa. *Anais da Esc. Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"*, 2: 293-422.
 - 3 — IVY, E. E. and K. P. EWING — 1946 — Benzene hexachloride to control cotton insects. *J. Econ. Ent.*, 39: 38-41.
 - 4 — LAUGER, P., H. MARTIN y P. MÜLLER — 1944 — Sobre la constitución y acción tóxica de los modernos inseticidas sintéticos y naturales. Trad. de J. R. Geigy S. A. Basilea, do original alemão em *Helvetia Chimica Acta*, 27: 892-928.
 - 5 — LEPAGE, H. S., O. GIANNOTTI e H. F. PEREIRA — 1945 — Técnica para o ensaio de inseticidas residuais. *O Biológico*, S. Paulo, 11: 320-325.
 - 6 — LUDVIG, G. F. and G. C. DECKER — 1947 — Toxicity of certain esters of phosphorus acids to aphids. *J. Econ. Ent.*, 40: 97-100.
 - 7 — SAUER, H. F. G. — 1940 — Primeiros resultados das experiências de combate à bróca do algodoeiro "*Gasterocercodes brasiliensis* Hambl." (Col. Curcul.) por meio de pulverizações com caldas arsenicais. *Arq. Inst. Biol.*, S. Paulo, 11: 499-530.
 - 8 — SAUER, H. F. G. — 1942 — "*Horcius nobilellus* (Berg)" (Hem. Mir.) Praga dos algodoais do Estado de S. Paulo. *Arq. Inst. Biol.*, S. Paulo, 13: 29-66.
-

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Estampa 1

Dispositivos utilizados nas experiências com R. B. 1018.

a e *b* — Torre de polvilhamento. *c* — Torre de pulverização.

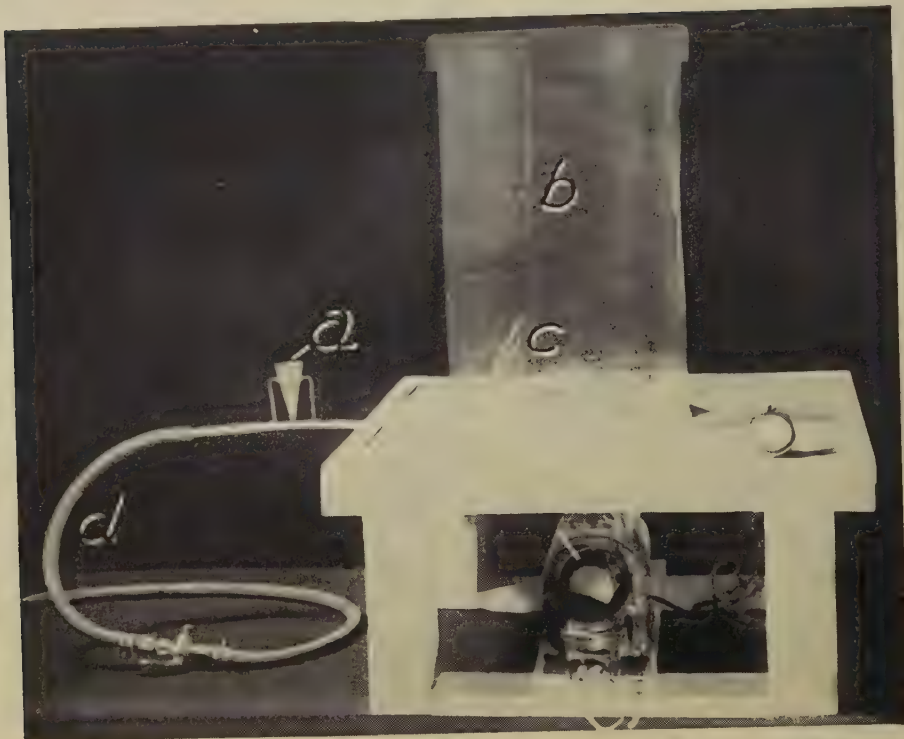
Estampa 2

Fig. A — Dispositivo utilizado nas experiências de polvilhamento com gafanhotos: *a* — Funil onde é colocada a quantidade conhecida de inseticida. *b* — Campanula de vidro onde são encerrados os insetos. *c* — Bico de polvilhamento. *d* — Linha de ar comprimido.

Fig. B — Técnica aplicada para os testes do R. B. 1018 com a bróca do algodoeiro — *Eutinobothrus brasiliensis*. Pedacos de caule dessa planta foram tratados com o produto, protegidos com mangas de vidro, e depois de secos infestados com os insetos.



A



B



ENSAIOS DE LABORATÓRIO SÔBRE A TOXIDEZ DO "DDT" AOS PEIXES GUARÚS (*PHALLOCERUS CAUDIMACULATUS* HENSEL)

POR

P. R. de Almeida

Do Instituto Biológico de S. Paulo

Não é pequena a literatura referente à ação do DDT em peixes. ELLIS e outros (4) assinalam sua toxidez para o peixe dourado (*Carassius auratus*), a qual é maior que para ratos, gatos e coelhos; GINSBURG (5), trabalhando com o mesmo *C. auratus*, verificou a alta toxidez do produto sob várias formas. Recentemente, COTTAN e HIGGINS (1), estudando em grandes áreas o efeito do DDT em peixes e animais silvestres, confirmaram sua toxidez e formularam recomendações quanto ao seu emprego, uma das quais se refere especialmente ao caso dos peixes.

No presente trabalho apresentamos os resultados de estudos relativos à toxidez do DDT para o guarú-guarú (*Phallocerus caudimaculatus* HENSEL), peixe comum em nossos riachos, e de grande utilidade para o homem, por se alimentar de larvas dos mosquitos vetores da malária.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados com guarú-guarús colhidos num pequeno riacho existente ao lado do Laboratório de Entomologia Agrícola, na Fazenda Experimental Mato Dentro.

Caçadas com uma peneira de malha fina, eram as fêmeas separadas, e levadas para cristalizadores de vidro contendo água de torneira.

A água nunca era tratada antes que permanecessem nela os peixinhos por um período mínimo de 3 horas, tempo suficiente para uma boa adaptação ao novo ambiente.

O DDT empregado apresentava-se sob duas formas:

1.º) *Gesapon* — Produto comercial facilmente miscível nágua, fabricado pela Cia. de Anilinas e Produtos Químicos Geigy do Brasil

S. A.; é obtido pela dissolução de 4 gr de DDT em 100 cc de uma mistura composta, em volume, de 4% de sulforecinato de sódio, 40% de acetona e 56% de álcool.

Preliminarmente foi empregado nas seguintes diluições: 1: 250 mil; 1: 500 mil; 1: 1 milhão; 1: 2 milhões; 1: 2,5 milhões; 1: 5 milhões; 1: 7,5 milhões e 1: 10 milhões.

Preparavam-se essas diluições da seguinte maneira: tomava-se 1 cc de *Gesapon*, que se adicionava, agitando, a 99 cc de água. A suspensão coloidal "stock" assim obtida era bastante estável e encerrava o DDT a 1: 2.500 em peso. Em seguida, com uma pipeta milimetrada, tomavam-se determinados volumes, previamente calculados, dessa suspensão "stock" que, depois de misturados com parte de água de cada vaso e completado o volume de 2 litros, viessem dar as diluições desejadas. Na segunda coluna de cada tabela acham-se os volumes da suspensão "stock" usados para cada diluição.

Para cada uma dessas diluições foi utilizado um recipiente contendo 2 litros da suspensão; para cada vaso foi estudada sempre a ação do DDT em 10 fêmeas de 2,5 cm de comprimento; um cristallizador, contendo água de torneira simplesmente e igual número de fêmeas, foi conservado para servir de testemunha.

Os resultados obtidos constam da tabela seguinte: (*)

TABELA 1
Testes com *Gesapon* em guarús adultos

Diluição do DDT	CC Stock	N.º de Peixes	Porcentagem de mortalidade após		
			24 h	48 h	72 h
1: 10 milhões	0,5	10	80	100	
1: 7,5 "	0,6	10	70	100	
1: 5 "	1,0	10	100	100	
1: 2,5 "	2,0	10	100	100	
1: 2 "	2,5	10	100	100	
1: 1 milhão	5,0	10	100	100	
1: 500 mil	10,0	10	100	100	
1: 250 "	20,0	10	100	100	
Testemunha	—	10	20	20	20
Temp. média °C			24,7	24,3	23,4

(*) — As temperaturas médias para cada período de observações da toxidez dos inseticidas utilizados estão registradas na última linha de cada tabela.

Os resultados surpreendentes obtidos com a diluição mais fraca (1: 10 milhões) induziram-nos à realização de uma nova série de experiências usando diluições mais fracas ainda. Assim é que, pela mesma forma já descrita, foram preparadas as seguintes diluições: 1: 10 milhões; 1: 20 milhões; 1: 30 milhões; 1: 40 milhões e 1: 50 milhões.

Os resultados obtidos nesta nova série, usando fêmeas de 2,5 cm, são os constantes da tabela seguinte:

TABELA' 2
Testes com *Gesapon* em guarús adultos

Diluição do DDT	CC Stock	N.º de Peixes	Porcentagem de mortalidade após:										
			18 h	24 h	28 h	42 h	46 h	48 h	51 h	96 h	115 h	166 h	192 h
1: 10 milhões	0,5	10	40	80	100								
1: 20 "	0,25	10	60	80	80	100							
1: 30 "	0,16	10	—	40	60	60	80	80	100				
1: 40 "	0,125	10	—	—	20	60	60	60	60	70	80	100	
1: 50 "	0,10	10	—	—	—	40	80	80	80	80	90	100	
Testemunha	—		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	20
Temp. média °C			22,2	22,9	23,3	22,3	22,7	23,2	23,5	24,2	24,1	23,3	23,1

Para ter-se melhor idéia do aumento das mortalidades nas várias diluições, os dados da tabela acima foram colhidos com intervalos menores do que no primeiro caso, isto é, tomados quando se notava qualquer modificação na mortalidade ou logo após um período noturno.

2.º) Dissolução do *DDT* puro em álcool etílico: Também permitiu-nos obter suspensões bastante estáveis.

Foi empregado nas seguintes diluições: 1: 500 mil; 1: 1 milhão; 1: 2,5 milhões; 1: 5 milhões; 1: 7,5 milhões; 1: 10 milhões; 1: 20 milhões; 1: 30 milhões; 1: 40 milhões e 1: 50 milhões.

Preparavam-se essas diluições da seguinte maneira: primeiramente tomava-se 1 gr de *DDT* puro, que depois de dissolvido em um pouco de álcool, se aumentava para completar o volume de 100 cc. Desta solução tomava-se 1 cc, que era misturado, agitando-se, com 99 cc de água, obtendo-se assim uma suspensão coloidal "stock" a 1: 10.000 de *DDT* em peso.

Nesta série de experiências foram utilizados recipientes um pouco menores, contendo 1 litro apenas de cada suspensão e a sua ação tóxica foi sempre estudada em 5 fêmeas de 2,5 cm.

Contrariamente ao caso do emprego do *Gesapon*, em que os vasos testemunhas continham simplesmente água, ao empregarmos a dissolução de *DDT* em álcool etílico, adicionámos sempre à água dos vasos testemunhas quantidade de álcool etílico igual à usada no vaso que recebera maior quantidade de suspensão "stock".

As mortalidades obtidas são as constantes das seguintes tabelas:

TABELA 3

Testes com solução alcoólica de *DDT* em guarús adultos

Diluição do DDT	CC Stock	N.º de peixes	Porcentagem de mortalidade após:			
			4 h	4½ h	6½ h	22½ h
1: 1 milhão	10	5	20	40	80	100
1: 500 mil	20	5	—	—	100	100
Test. + álcool	20	5	—	—	—	20
Temp. média °C			26,1	25,0	24,0	24,1

TABELA 4

Testes com solução alcoólica de *DDT* em guarús adultos

Diluição do DDT	CC Stock	N.º de Peixes	Porcentagem de mortalidade após:										
			21 h	24 h	27 h	40 h	48 h	75 h	92 h	120 h	141 h	143 h	192 h
1: 2,5 milhões	4	5	100										
1: 5 "	2	5	100										
1: 7,5 "	1,33	5	100										
1: 10 "	1	5	100										
1: 20 "	0,5	5	100										
1: 30 "	0,38	5	20	40	40	60	60	60	60	100			
1: 40 "	0,25	5	20	20	40	40	40	40	60	100			
1: 50 "	0,2	5	—	—	—	20	20	40	60	80	100		
Test. + álcool	4	5	—	20	20	20	20	20	20	20	20	40	40
Temp. média °C			21,7	22,7	23,1	23,0	23,4	23,7	23,6	26,5	24,2	24,4	24,5

Também foi determinada a toxidez do *DDT* nos alevinos do guarú, de 1-2 dias de idade, nascidos em laboratório. As determi-

nações foram feitas com suspensões a 1: 50 milhões e 1: 60 milhões, usando-se 10 peixinhos em cada frasco de 1 litro de suspensão. Empregou-se a mesma solução "stock" e a mesma técnica que no caso anterior.

Os resultados obtidos acham-se na seguinte tabela:

TABELA 5

Testes com solução alcoólica de *DDT* em alevinos de guarú

Diluição do DDT	CC Stock	N.º de Peixes	Porcentagem de mortalidade após:				
			21½ h	24 h	27½ h	45½ h	48 h
1: 50 milhões	0,20	10	80	80	80	100	
1: 60 "	0,16	10	40	50	60	90	100
Testemunha	—	10	—	—	—	—	—
Temp. média °C			26,4	26,1	25,6	25,1	25,3

Durante todos os nossos ensaios os peixes eram alimentados suficientemente com alimento próprio, dos comumente encontrados à venda no comércio; o arejamento dos líquidos contidos nos recipientes era feito duas vezes ao dia, durante alguns minutos, por meio de ar comprimido, proveniente de um compressor elétrico, através de tubos capilares dispostos no interior dos líquidos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Examinando-se as tabelas conclue-se, das mortalidades obtidas, que o *DDT* foi bastante tóxico ao guarú, em todas as concentrações empregadas.

Nota-se alguma diferença entre as mortalidades causadas pelas duas diferentes formas em que foi êle empregado.

Considerando-se o número de horas para que nas diferentes diluições se obtenham 100% de mortalidade, conclue-se (pelas tabelas 2 e 4) que o *DDT* dissolvido em álcool foi mais tóxico que o *Gesapon* nas diluições de 1: 10 milhões; 1: 20 milhões; 1: 40 milhões e 1: 50 milhões, sendo menos tóxico que o *Gesapon* somente a 1: 30 milhões.

Comparando-se os dados aqui apresentados com os obtidos por GINSBURG (5), que também trabalhou com *DDT* em solução alcoólica, conclue-se que o *DDT*, sob esta forma (tabelas 3 e 4), é muito mais tóxico ao guarú do que ao peixe dourado (*C. auratus*).

Os sintomas de intoxicação são os mesmos, tanto com *Gesapon* como com *DDT* dissolvido em álcool e assemelham-se aos descritos por EIDE e outros (3) e ELLIS e outros (4).

Nas diluições mais fortes (1: 2,5 milhões até 1: 10 milhões) os peixes apresentaram sintomas bem evidentes de intoxicação 2 a 3 horas depois do tratamento dos líquidos.

A princípio nadam rapidamente, depois o movimento das nadadeiras vai diminuindo, principalmente o ondulatório da nadadeira caudal, ao mesmo tempo que o peixe tem dificuldade de permanecer horizontalmente. Na posição inclinada, com a cauda para baixo, tenta constantemente atingir nível superior, indo ao fundo do vaso na mesma posição, logo depois de cessados os seus movimentos. Uma vez aí, repete a ascensão, cada vez mais dificultada pela redução dos movimentos coordenados e pelo desequilíbrio progressivo, passando a nadar sobre um dos lados. Depois o desequilíbrio se acentua e os peixes nadam com maior dificuldade, fazendo-o ora em posição invertida, ora dando rotações lentas ao redor de seu eixo maior; os movimentos vão-se reduzindo cada vez mais; os peixes vão ao fundo e não conseguem mais subir.

Comparando-se os dados das tabelas 4 e 5, conclue-se que os alevinos são muito mais sensíveis ao *DDT* do que os guarús adultos. Tal sensibilidade poderá, na prática, restringir o emprego de suspensões menos diluídas para o combate aos anofelinos, porquanto experiências de laboratório de DEONIER (2) mostraram que uma suspensão acetônica a 1: 100 milhões deu praticamente 100% de mortalidade das larvas dos anofelinos em 48 horas.

Em zonas de culturas irrigadas, como a do arroz, é que devemos levar em consideração a sensibilidade dos alevinos quando as águas utilizadas venham formar, à jusante, açudes, lagos e ribeiros.

LABORATORY EXPERIMENTS ON THE TOXICITY OF "DDT" TO THE
"GUARU" FISH (*PHALLOCERUS CAUDIMACULATUS* HENSEL)

A b s t r a c t

*In this paper the author studies the toxicity of DDT to fishes guarú-guarús (*Phallocerus caudimaculatus* Hensel).*

"Gesapon" and DDT dissolved in ethyl-alcohol were used in colloidal suspensions.

BIBLIOGRAFIA

- 1) — COTTAN, C. & E. HIGGINS — 1946 — DDT and its effects on fish and wildlife. *Jour. Econ. Ent.*, **39** (1): 44-52.
 - 2) — DEONIER, C. C. & OUTROS — 1945 — DDT as an anopheline larvicide. Laboratory tests. *Jour. Econ. Ent.*, **38** (2): 241-243.
 - 3) — EIDE, P. M. & OUTROS — 1945 — The toxicity of DDT of certain forms of aquatic life. *Jour. Econ. Ent.*, **38** (4): 429-493.
 - 4) — ELLIS, M. M. & OUTROS — 1944 — Toxicity of Dichloro-Diphenyl-Trichlorethane (DDT) to goldfish and frogs. *Science*, **100** (2.604): 477.
 - 5) — GINSBURG, J. M. — 1945 — Toxicity of DDT to fish. *Jour. Econ. Ent.*, **38** (2): 274-275.
-

CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO DA SAÚVA

(ATTA spp. - HYMENOPTERA - FORMICIDAE)
IV - O SAUVEIRO DEPOIS DA 1.^a REVOADA
(ATTA SEXDENS RUBROPILOSA FOREL, 1908)

POR

M. Autuori

Do Instituto Biológico de S. Paulo

Com 1 figura no texto e estampas 3-4

- | | |
|--|----------------------------|
| I - Introdução | IV - Excavação do sauveiro |
| II - O Sauveiro depois do 38. ^o mês | V - Panelas e seu conteúdo |
| III - Longevidade da colônia | VI - Várias |

I — INTRODUÇÃO

O presente artigo trata principalmente do desenvolvimento de um dos sauveiros que vinhamos observando, em campo experimental. Consideramos como segunda fase de desenvolvimento dos sauveiros a que se inicia em seguida à primeira “revoada”, isto é à maturidade sexual da colônia.

Este sauveiro, cuja içá (rainha) penetrara no solo, após o vôo nupcial, em 9 de novembro de 1937, fundando a nova colônia, foi naquela ocasião assinalado com o número 42. Desenvolveu-se sob nosso controle, permitindo minuciosa observação de sua evolução até março de 1944, época em que terminamos a excavação da colônia viva, por meio de cortes consecutivos.

No primeiro trabalho desta série (AUTUORI, M. — 1941, “Arq. Inst. Biol.”, S. Paulo, 12:197-228) tratamos do sauveiro n.º 42 e de mais dois outros (n. 36 e 80f). Descrevemos, então, o método de trabalho e tudo o que pudemos observar nos seus 38 primeiros meses de vida, isto é, de novembro de 1937 a dezembro de 1940.

Para melhor compreensão do presente artigo, recapitularemos, em seguida, as principais etapas do desenvolvimento da colônia n.º 42, no decorrer daquele período:

1.º — Fundação, em 9 de novembro de 1937.

2.º — Abertura do primeiro olheiro, em 7/II/1938 (90 dias após a fundação).

- 3.º — Abertura do segundo olheiro, em 15/I/1939 (intervalo entre a abertura do 1.º e do 2.º olheiros: 342 dias).
- 4.º — Número de dias entre a abertura do 2.º e do 10.º olheiros: 138 dias.
- 5.º — Número de olheiros no primeiro ano (XII/1938): 1.
- 6.º — Número de olheiros no segundo ano (XII/1939): 161.
- 7.º — Número de olheiros no terceiro ano (XII/1940): 691.
- 8.º — Total de olheiros aos 38 meses de vida da colônia: 853.
- 9.º — Aparecimento das várias castas de formigas:
 - a) — Operários de todos os tamanhos, com excepção dos operários máximos (soldados): março a setembro de 1938 (do 4.º ao 10.º mês a contar da fundação).
 - b) — Operários máximos: setembro de 1939 (22.º mês de vida da colônia).
 - c) — Formas aladas (sexuadas): dezembro de 1940, isto é, 38 meses após a fundação (1.ª revoada).

II — DESENVOLVIMENTO DO SAUVEIRO DO 38.º MÊS EM DIANTE

Dos últimos três sauveiros adultos, que se desenvolveram no campo experimental, marcados com os números 36, 80f e 42, os dois primeiros mudaram-se para pontos afastados, fora de nosso controle, o que nos obrigou a extingui-los. O sauveiro n.º 42, que permaneceu praticamente no seu lugar primitivo, havendo-se apenas deslocado para um dos lados, permitiu-nos continuar as observações até princípios de 1944. No que diz respeito ao deslocamento observado nessa colônia, faremos comentários mais adiante.

Nos começos de 1944 fomos obrigados a extinguir também o sauveiro n.º 42, o último do campo experimental, pois não era mais possível mantê-lo vivo, em virtude dos estragos que causava às plantações do parque e das culturas que circundam o edifício do Instituto Biológico.

Os novos olheiros que se abriam, nesta colônia, eram assinalados diariamente, em ordem cronológica, por meio de estacas numeradas. Na Tabela 1 vê-se a relação do aumento mensal dos olheiros, desde seu início, em 1938, até dezembro de 1943.

Verifica-se, então, que o sauveiro n.º 42, nos anos de 1941, 1942 e 1943, abriu respectivamente mais 296, 317 e 364 novos olheiros, num total de 977. Estes, somados aos 853 abertos nos três primei-

TABELA 1
Número de olheiros abertos mensalmente e sua soma (de 1938 a 1943)

MESES	1 9 3 8		1 9 3 9		1 9 4 0		1 9 4 1		1 9 4 2		1 9 4 3	
	Parcelas	Totais	Parcelas	Totais	Parcelas	Totais	Parcelas	Totais	Parcelas	Totais	Parcelas	Totais
Jan.	1	1	1	2	105	268	26	879	34	1183	63	1529
Fev.	0	1	0	2	62	330	20	899	27	1210	92	1621
Mar.	0	1	2	4	64	394	35	934	15	1225	63	1684
Abr.	0	1	2	6	117	511	11	945	20	1245	42	1726
Mai.	0	1	2	8	80	591	10	955	79	1324	16	1742
Jun.	0	1	16	24	30	621	13	968	40	1364	6	1748
Jul.	0	1	17	41	45	666	18	986	25	1389	8	1756
Ago.	0	1	7	48	18	684	35	1021	32	1421	11	1767
Set.	0	1	4	52	20	704	19	1040	14	1435	10	1777
Out.	0	1	11	63	95	799	74	1114	10	1445	19	1796
Nov.	0	1	54	117	41	840	23	1137	6	1451	22	1818
Dez.	0	1	46	163	13	853	12	1149	15	1466	12	1830

ros anos de vida (em 1938, 1; em 1939, 162 e em 1940, 690), perfazem um total de 1.830 olheiros abertos pelo sauveiro n.º 42, em seus seis anos de vida.

Em trabalho anterior (l. c.) organizamos a tabela das contagens dos olheiros em atividade (olheiros abertos) e dos inativos (olheiros fechados) do sauveiro n.º 42. Essas contagens foram feitas quando o número total de olheiros atingia a cifra de 936. Reproduzimos aqui (Tabela 2) aqueles dados, acrescentando as porcentagens e a média de olheiros abertos.

TABELA 2

Variações na atividade dos olheiros do sauveiro n.º 42, em 1941

D A T A	O L H E I R O S			
	Abertos	Fechados	Totais	% de abertos
2/IV/1941	416	520	936	44,4%
9/IV/1941	487	449	936	51,9%
24/IV/1941	474	462	936	50,6%
14/IV/1941	556	380	936	59,4%
26/V/1941	566	370	936	60,4%
Média geral				53,7%

Em setembro e novembro de 1943, quando o sauveiro acusava cerca de 1.800 olheiros, foram feitas novas contagens, tanto de abertos como de fechados, como se vê na Tabela 3.

TABELA 3

Variações na atividade dos olheiros do sauveiro n.º 42, em 1943

D A T A	O L H E I R O S			
	Abertos	Fechados	Totais	% de abertos
IX/1943	613	860	1.473	41,6%
IX/1943	725	765	1.490	48,6%
XI/1943	960	834	1.794	53,5%
Média geral				47,9%

Verifica-se por êsses dados que a contagem, cujo total mais se aproxima do conjunto real de olheiros existentes na ocasião, foi

a última, com 53,5% de olheiros abertos. As duas primeiras contagens totais da Tabela 3 são incompletas.

Na Tabela 2 vemos que somente 53,7% de olheiros estavam em atividade no momento das contagens. Verificamos que olheiros inativos em algumas das contagens, em outras se apresentavam abertos e ativos. Certos olheiros, portanto, podem permanecer inativos por algum tempo, e mais tarde ser aproveitados, se necessários. Estamos convencidos de que o número de canais está intimamente relacionado à distribuição dos vegetais aproveitáveis para a formação da “esponja” de fungo. Várias vezes observamos que zonas já exploradas, seja devido ao ataque das formigas, seja por outro qualquer motivo, não fornecendo colheitas apreciáveis, eram temporariamente abandonadas, enquanto outras, mais rendosas, passavam a ser preferidas pelas formigas. Com o tempo, os canais formam uma rede subterrânea que abrange uma grande área, bem maior do que a explorada de uma só vez. Isto permite às formigas atacarem uma ou outra área, a mais rendosa na ocasião, sem necessidade de abrirem canais especiais para esse fim.

Se compararmos os resultados da Tabela 3 com os da Tabela 2, verificaremos que as médias relativas à porcentagem de olheiros abertos se aproximam (48%, para a Tab. 3; 53% para a Tab. 2).

No trabalho anteriormente citado escreviamos, às págs. 214 e 215: “Pelas nossas observações parece que o saúveiro alcança seu máximo desenvolvimento após cerca de 3 anos a contar de sua fundação.” E mais adiante: “Resta averiguar si, por ocasião da época próxima à segunda revoada, isto é, de setembro a dezembro de 1941 o saúveiro tomará novo incremento, aumentando de muito o número atual de olheiros.”

Pelos totais da Tabela 1 vê-se que o saúveiro dobrou, praticamente, o número de olheiros, nos três anos seguintes de vida. Não houve, pois, uma estabilização do número de olheiros, como nos parecia na ocasião em que escreviamos o trecho acima reproduzido. A colônia continuou o seu desenvolvimento, abrindo novos olheiros e aumentando sua extensão.

III — LONGEVIDADE DA COLÔNIA

Todas as observações feitas até agora indicam-nos que o saúveiro é monogínico, isto é, dispõe normalmente de uma só fêmea reprodutora. Com que idade, então, entra o saúveiro em declínio?

Somente poderá responder a esta pergunta, com bases seguras, quem puder acompanhar por muitos anos o desenvolvimento de sauveiros de idade conhecida, em lugar onde sua expansão não cause transtornos e prejuízos, como infelizmente aconteceu no nosso caso, quando fomos obrigados a interromper as observações do sauveiro n.º 42, extinguindo-o após seis anos.

E' óbvio que, uma vez admitida a monoginicidade de um sauveiro, a duração deste dependerá da persistência da fundadora, a não ser que se admita a possibilidade de haver substituição de reprodutora.

Sobre a longevidade de uma içá do gênero *Atta*, queremos registrar aqui alguns dados colhidos na observação de uma colônia de *Atta sexdens rubropilosa* FOREL, 1908, mantida em laboratório há cerca de 12 anos.

Esta colônia foi-nos cedida em novembro de 1940, com 7 anos de idade, pelo Snr. JOSÉ VAZ PUPO NOGUEIRA, Chefe do Serviço de Extinção da Saúva, da Prefeitura Municipal de São Paulo. Foi retirada do solo, em junho de 1935, tendo sido fundada na revoadada de fins de 1933. Foi-nos entregue já bem desenvolvida, com 11 "esponjas" de fungo, sendo uma encerrada em caixa de paredes de vidro e as outras "esponjas", menores, em garrafas de vidro, bojudas (Est. 4, fig. D). Por ocasião da entrega do aludido sauveiro, uma das garrafas, contendo população e "esponja" foi retirada e permaneceu com o Snr. J. VAZ PUPO NOGUEIRA.

Após algum tempo verificamos que a colônia se achava em franco declínio. As "esponjas" diminuiam de volume, o corte das folhas era reduzido, e pelas observações através dos vidros verificávamos a ausência quase completa de formas jovens. Passamos a observar atenta e assiduamente a colônia e chegamos à conclusão de que nela não mais se achava a rainha, seja por ter morrido, seja por ter ficado na "esponja" em poder do Snr. PUPO NOGUEIRA. Comunicamos o fato a êsse Senhor e após alguns dias êle nos avisou de que a rainha se encontrava na "esponja" mantida em seu poder. Enquanto esperávamos a entrega da rainha, realizamos várias experiências, em tentativas de prover a colônia acéfala de outra rainha da mesma espécie. Para isso colocávamos a nova rainha ao alcance das formigas e observamos por cinco vezes (com 5 rainhas de colônias diferentes, mas todas da mesma espécie) as saúvas recusarem-na, arrastando-a sempre para longe das "panelas" e atirando-a para

fora da mesa em que se achava instalado o sauveiro. Encontrávamos a içá no chão, morta ou ainda viva, mas com as pernas ou as antenas mutiladas.

O comportamento das saúvas ao perceberem a rainha estranha foi sempre idêntico. As primeiras formigas que a encontravam tentavam segurá-la pelas pernas ou pelas antenas e arrastá-la para longe da colônia. Novas formigas chegavam, um alvoroço se generalizava, havendo grande ajuntamento de saúvas, em torno da içá intrusa. Dentro de alguns minutos já não mais se conseguia ver a rainha, mas apenas um amontoado de formigas de todos os tamanhos que tentavam afastá-la. Às vezes tínhamos a impressão de que uma parte das formigas tentava arrastar a içá em direção às esponjas de fungo, o que porém nunca se deu. As oscilações do deslocamento, em qualquer sentido, eram sempre lentas, com avanços e recuos. É provável que devido ao grande número e, principalmente à agitação das formigas, fosse difícil uma orientação definida. A içá sempre se mantinha em atitude passiva, sem mostrar resistência ou tentativa de defesa.

Chegamos pois à conclusão de que a colônia não aceitava uma rainha estranha, ainda que da mesma espécie (*Atta sexdens rubropilosa*). Isso não exclui a possibilidade de que uma colônia venha a aceitar outra rainha, dependendo, talvez, da técnica de colocação da nova içá em contato com a colônia.

Finalmente, quando obtivemos a legítima rainha, que se achava afastada da colônia havia cerca de 5 meses, as coisas mudaram de aspecto. A içá foi imediatamente aceita. Originou-se uma agitação insólita; aglomeraram-se as formigas, em grande número, em torno da içá, mas, sem indecisão alguma e em poucos minutos, o ajuntamento que a rodeava encaminhou-se decididamente, sem recuos, para a entrada de um dos recipientes com “esponja” de fungo (a maior) e a içá desapareceu de nossas vistas, entranhando-se pela “esponja” a dentro. Já nos primeiros 20 dias notamos uma atividade maior da colônia; corte de maior número de folhas e, após cerca de 60 dias, elevado número de larvas era visto através das paredes de vidro que encerravam a “esponja” de fungo habitada pela rainha.

Este sauveiro conta presentemente 14 anos de vida. Tem-se desenvolvido relativamente pouco no que diz respeito ao aumento do fungo. Em janeiro de 1947 as “esponjas” eram em número de

9. Temos observado flutuação dêsse número, sendo maior a atividade da colônia em março-abril. De modo geral a colônia tem-se mantido dentro do limite de 6 a 12 “esponjas” de fungo; estas são, às vezes, maiores, tomando conta de quase todo o espaço livre nos recipientes que as encerram, e outras vezes menores, deixando espaços vazios.

Um fato que nos parece interessante e que desejamos relatar, é que nesta colônia e em duas outras do gênero *Atta*, já “adultas”, mantidas em laboratório, nunca observamos o fenômeno da revoada, nem mesmo a presença de larvas ou pupas de alados. Em duas colônias de *Acromyrmex* spp. (“Quem-Quem”), todavia, também criadas em laboratório, a revoada tem-se dado normalmente todos os anos. Sobre estas formigas daremos uma nota oportunamente.

Várias tentativas foram feitas para procurar descobrir-se a causa impediante da produção de alados em nossas colônias de *Atta*, de laboratório. Assim, variamos ao máximo possível a qualidade e mesmo a quantidade de vegetais que diariamente se oferecem às saúvas. Mantivemos no ambiente uma temperatura mais ou menos constante, entre 26° e 28°C, temperatura que é a que se encontra nas “panelas” dos ninhos em natureza, conforme pudemos constatar por meio de termômetros apropriados. Estas tentativas não deram resultado.

A temperatura do ambiente influe na atividade das formigas. Notamos sempre maior atividade e maior crescimento das “esponjas” de fungo quando mantemos no ambiente temperatura e humidade mais ou menos constantes. A temperatura de ca. 29°C a atividade das saúvas atinge o máximo, mesmo nos dias mais frios do ano. Também notamos que com temperaturas elevadas e constantes, em ambiente húmido, as formigas não mais se restringem a formar as “esponjas” nos recipientes. Fazem-nas fora, em cima da mesa, por entre as folhas que elas costumam acumular em volta das “panelas” artificiais. Basta porém, abrir as janelas do laboratório, ventilando portanto o ambiente, para que todas as “esponjas” expostas sejam recolhidas pelas formigas. Com a elevação da temperatura e falta de ventilação, o laboratório adquire os requisitos necessários para o bom desenvolvimento do fungo, tornando-se por assim dizer, uma grande “panela”. Aliás, é comum encontrarem-se na natureza casos semelhantes, como p. ex. em saúveiros localizados sob construções, onde espaços vazios, bem protegidos, podem ser

ocupados pelas “esponjas” de fungo, que então se ajustam às cavidades em que se desenvolvem.

Podemos, pois, registrar o fato de uma rainha de *Atta sexdens rubropilosa* conservar-se viva, continuando a postura, já há 14 anos. A colônia contém, além de numerosa população de adultos, larvas, prepupas e pupas de todas as castas (com exceção das dos alados) que sempre podem ser vistas sôbre as “esponjas” através das paredes de vidro. Na primavera e na primeira metade do verão, as formas jovens são vistas em maior número.

O fato de não conseguirmos revoada na colônia de *Atta*, em laboratório, talvez não nos permita comparar a idade de uma içá de saueiro de campo com a de uma de laboratório. A postura anual, “in natura”, de alguns milhares de ovos, futuros machos e fêmeas, após o terceiro ano de vida da içá, deve possivelmente exgotá-la mais rapidamente. Ainda mais, devemos tomar em consideração que êsses milhares de indivíduos, de porte muito maior que o dos operários e que portanto devem consumir maior quantidade de fungo durante cerca de seis meses de seu ciclo evolutivo, exigem também uma população bem mais numerosa de operários, não só para uma produção maior de fungo, como para maior número de excavações (“panelas”) destinadas às “esponjas” e a essa população flutuante de indivíduos agigantados. Também a extensão de canais é aumentada, exigindo o trabalho de maior número de formigas.

De acordo com o exposto, acreditamos que por mais tempo que se mantenha uma colônia em laboratório, nas condições em que estamos mantendo as nossas, ela nunca alcançará tamanho que se aproxime do dos saueiros de campo, salvo se outras condições especiais permitirem à colônia a produção de formas aladas. Parece-nos, pois, que as proporções notáveis que alcançam saueiros “in natura” ligam-se intimamente à produção anual das formas sexuais.

Se estudarmos a curva de crescimento dos saueiros n. 36,80f e 42 (l.c., p. 211), verificaremos nos primeiros 18 meses de vida (de novembro de 1937 a julho de 1939) um total de olheiros que oscila entre 10 e 20. Trata-se, pois, de pequenos saueiros, com algumas “panelas” de fungo, comparáveis a um dos nossos saueiros de laboratório. Acompanhando-se a mesma curva de crescimento, verificaremos que nos 18 meses seguintes (de julho de 1939 a dezembro de 1940) o número de olheiros abertos pelas mesmas colônias, num

mesmo período de tempo, alcança um total que se aproxima de 1.000. Este elevado número de olheiros, e consequentemente o grande desenvolvimento do saueiro, é atingido antes da primeira revoada. Parece-nos, pois, admitindo-se a existência "in natura" de saueiros inaptos a criar formas aladas, que tais saueiros anormais não alcançariam as proporções dos que entram em revoada anualmente, após seu terceiro ano de vida.

IV — EXCAVAÇÃO DO SAUEIRO N.º 42

Em janeiro de 1944, iniciamos a excavação do saueiro n.º 42, por meio de cortes consecutivos de 20 cm de espessura.

Na superfície do solo a colônia apresentava 4 montes de terra solta, mais ou menos ligados, mas permitindo notar-se uma separação entre êles; abrangiam uma área de cerca de 100 m², medindo na sua máxima largura cerca de 5 metros e no máximo comprimento 25 m. Na fig. 1 vê-se o esquema do aspecto externo do saueiro e na estampa 1, fig. A, uma fotografia dele.

Os montes de terra solta (fig. 1: A, B, C, e D) correspondiam respectivamente aos lugares em que se deram as quatro revoadas que o saueiro teve nos seus seis anos de vida. Em dezembro de 1940 o saueiro dera a primeira revoada e apresentava, na superfície, apenas o primeiro monte de terra solta (fig. 1, A). Após a primeira revoada, de janeiro a outubro de 1941, notamos a formação de novo monte de terra solta ao lado do primeiro, e em novembro de 1941, quando se deu a segunda revoada, verificamos que, na sua maioria, fêmeas e machos saíram dos olheiros abertos no segundo monte de terra solta (fig. 1, B). Em novembro de 1942 o mesmo fato foi observado e a terceira revoada deu-se pelos olheiros do terceiro monte ali existente (fig. 1, C). Finalmente em outubro de 1943 mais um monte de terra solta, o quarto (fig. 1, D) foi observado, ao lado do terceiro, e deu-se aí a quarta revoada.

Até dezembro de 1940 toda a atividade das formigas no carregamento de terra do subsolo para a superfície estava, naturalmente, confinado à área ocupada pelo primeiro monte de terra solta, o único existente naquela ocasião. Desta data em diante, com a formação do segundo monte de terra, a atividade maior das formigas era notada neste, apesar de ainda haver movimento de formigas em olheiros da área A (primeiro monte). Com o aparecimento do terceiro monte (área C) a atividade das formigas paralizou-se completamente

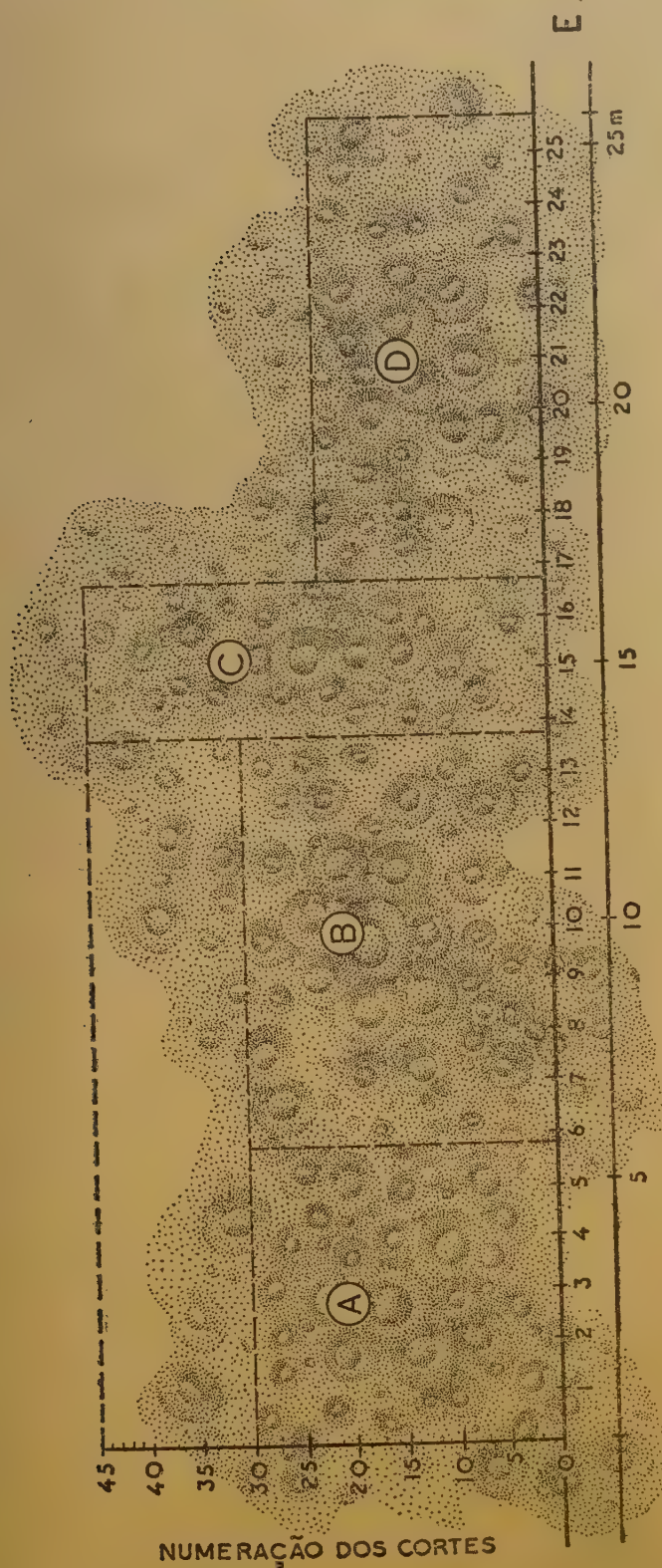


Fig. 1 — Esquema do aspecto externo do Sauveiro n.º 42: A a D, as quatro áreas em que foi dividido o Sauveiro n.º 42, correspondentes aos montes de terra solta das sucessivas revoadas. E — valeta inicial da escavação.

na área A, apresentando maior atividade na área C. Finalmente, em 1943, com a formação do quarto monte (área D) o trabalho das formigas era notado nas áreas C e D, paralizandose, de todo, na área B.

Assistimos, pois, ao deslocamento da zona das “panelas” para um dos lados, iniciando-se tal movimento após as respectivas revoadas.

O número total de olheiros de canais destinados ao trânsito de formigas carregando terra e, portanto, de olheiros que afloravam na área ocupada pelos quatro montes de terra solta, era de 737. Esta contagem foi feita em janeiro de 1944. Deste total, 132 olheiros estavam em atividade e 605 fechados. Todos os olheiros eram marcados permanentemente, em ordem cronológica, à medida que apareciam, por meio de estacas numeradas.

Também assinalamos, separadamente, para cada um dos montes de terra solta, o número de olheiros abertos e fechados, conforme se vê na Tabela 4.

TABELA 4

Contagem de olheiros em janeiro de 1944

ÁREA DE TERRA SOLTA	N.º DE OLHEIROS	
	Abertos	Fechados
A	0	112
B	0	156
C	2	86
D	130	251
Totais	132	605

Toda a terra solta resultante da excavação de “panelas” e canais e acumulada pelas formigas na superfície do solo (Est. 3, fig. B), foi raspada, medida e pesada. Os totais obtidos foram os seguintes: 22,720 m³ de terra solta, correspondentes à 15,700 m³ de terra acamada, com o peso aproximado de 40.000 quilos. O fator de conversão de terra solta em terra acamada foi determinado em 0,691, pesando-se um volume de terra solta e o mesmo volume de terra acamada na altura média da zona de “panelas”.

A esta quantidade de terra por nós medida seria necessário adicionar a quantidade que, naturalmente, fôra dispersada pelo vento e pelas chuvas no decorrer dos seis anos e três meses de vida deste sauveiro. Convem, porém, tomar em consideração que a área de terreno ocupada pelo sauveiro é plana e nela sempre mantivemos a vegetação natural aí existente, o que deve ter evitado a dispersão de uma grande quantidade de terra solta. Podemos, pois, afirmar que o sauveiro n.º 42, em seis anos e três meses de vida, deslocou do subsolo para a superfície da terra, uma quantidade, pelo menos, de 15,700 m³ de terra (acamada).

Após a retirada de toda a terra solta da superfície do sauveiro e quando os olheiros entupidos pela remoção da terra se abriram novamente, procedemos à contagem deles e obtivemos o total de 99 olheiros abertos na terra firme (Est. 4, fig C) contra 132 olheiros ativos contados na superfície da terra solta. Não podemos dizer que este resultado seja absoluto, porquanto é possível que alguns olheiros na terra firme não tenham mais sido abertos pelas formigas. Mas acreditamos que haja uma ramificação dos canais na camada de terra solta. Esta ramificação, que resulta numa diminuição de calibre nos canais, à medida que se aproxima da superfície, pode ser explicada como um recurso de que as formigas se servem para entupir mais rapidamente vários olheiros estreitos do que um de grande diâmetro.

Uma vez retirada a terra solta, iniciamos a excavação do sauveiro por meio de cortes consecutivos, de 20 cm de espessura. A excavação, de acordo com o método descrito em trabalho anterior (AUTUORI, M.-1942, "Arq. Inst. Biol.", S. Paulo, 13:137-148) e usado em outras experiências, foi levada a efeito na colônia viva. Primeiramente e por meio de sondagem, com a Perfuradora J. P. (AUTUORI, M.-1940, "O Biológico", S. Paulo, VI (9):270-272) delimitamos a área de "panelas". Em seguida dividimos o sauveiro em quatro zonas, abrangendo cada zona a área de um dos quatro montes de terra solta que descrevemos anteriormente. Depois, ao longo de toda a área ocupada pelo sauveiro, abriu-se uma valeta inicial de 25,80 m de comprimento por 2 m de profundidade (fig. 1, E). Mais tarde aprofundamos mais esta valeta, na extensão correspondente às áreas A e B (fig. 1). A valeta foi localizada, também por meio de perfurações com a ferramenta J. P., aquém da zona de "panelas".

A primeira série de cortes foi feita na área correspondente ao primeiro monte de terra (fig. 1, A). Nesta área fizemos 30 cortes

de 5,80 m de extensão; na segunda (fig. 1, *B*) também foram feitos 30 cortes de 8,00 m; na terceira (fig. 1, *C*) 45 cortes de 3 m e, finalmente, na quarta (fig. 1, *D*) 22 cortes de 9 m. Todos os cortes mediam 20 cm de espessura. Quanto à profundidade, a maioria dos cortes atingiu 2 m; apenas os cortes correspondentes às áreas *A* e *B* atingiram uma profundidade maior, até 3,50 m, devido às “panelas” de lixo que foram encontradas, na sua grande maioria, abaixo de 2,50 m.

Preferimos dividir os cortes em quatro secções, porque achamos que se fizéssemos de cada vez um único corte, em toda a extensão de 25,80 m do sauveiro, teríamos muito maior demora entre um e outro corte e, ao aproximarmo-nos da zona de “panelas” com fungo e população, poderiam tais intervalos prolongados dar tempo às formigas para movimentarem-se em tentativa de fuga para “panelas” mais afastadas. Isto causaria confusão nas observações a serem feitas, podendo-se dar um acúmulo de fungo e formigas nas “panelas” mais afastadas. Estacas e fios de barbante na superfície do sauveiro permitiram-nos marcar exatamente os pontos em que deviam ser iniciados os cortes das secções seguintes.

Damos, mais adiante, em Tabelas e Gráficos, os totais das “panelas” e seu conteúdo, em cada uma das áreas.

V — “PANELAS” E SEU CONTEÚDO

Pelos resultados das excavações, verificamos que a zona “viva” do sauveiro limitava-se às áreas *C* e *D* (fig. 1), com um total de 248 “panelas” com fungo e população (Tab. 9 e gráfico 5).

A zona de “panelas de lixo” localizava-se nas áreas *A* e *B*, as mais afastadas da zona “viva” e à maior profundidade. As “panelas” cheias de terra distribuíam-se em maior número, 49 e 56 respectivamente, nas áreas *A* e *B* e, em menor número, 9, na área *C*. As “panelas” vazias encontravam-se nas quatro áreas, estando, num total de 1.219, localizadas 719 nas áreas *C* e *D*, a zona “viva” do sauveiro.

Podemos também assinalar que este sauveiro, em dezembro de 1940, quando apenas notávamos a presença do primeiro monte de terra solta, tinha um total de 342 “panelas”. Em dezembro de 1941 este número subiu a 888 (342 já existentes e mais 546). Em dezembro de 1942, mais 718 foram excavadas, perfazendo um total de 1.606. Em fins de 1943, mais 314 juntavam-se a essas, alcan-

çando o sauveiro um total geral de 1.920 “panelas”, assim distribuídas:

“Panelas” vazias	1.219
“Panelas” com terra	157
“Panelas” com lixo	296
“Panelas” com fungo	248

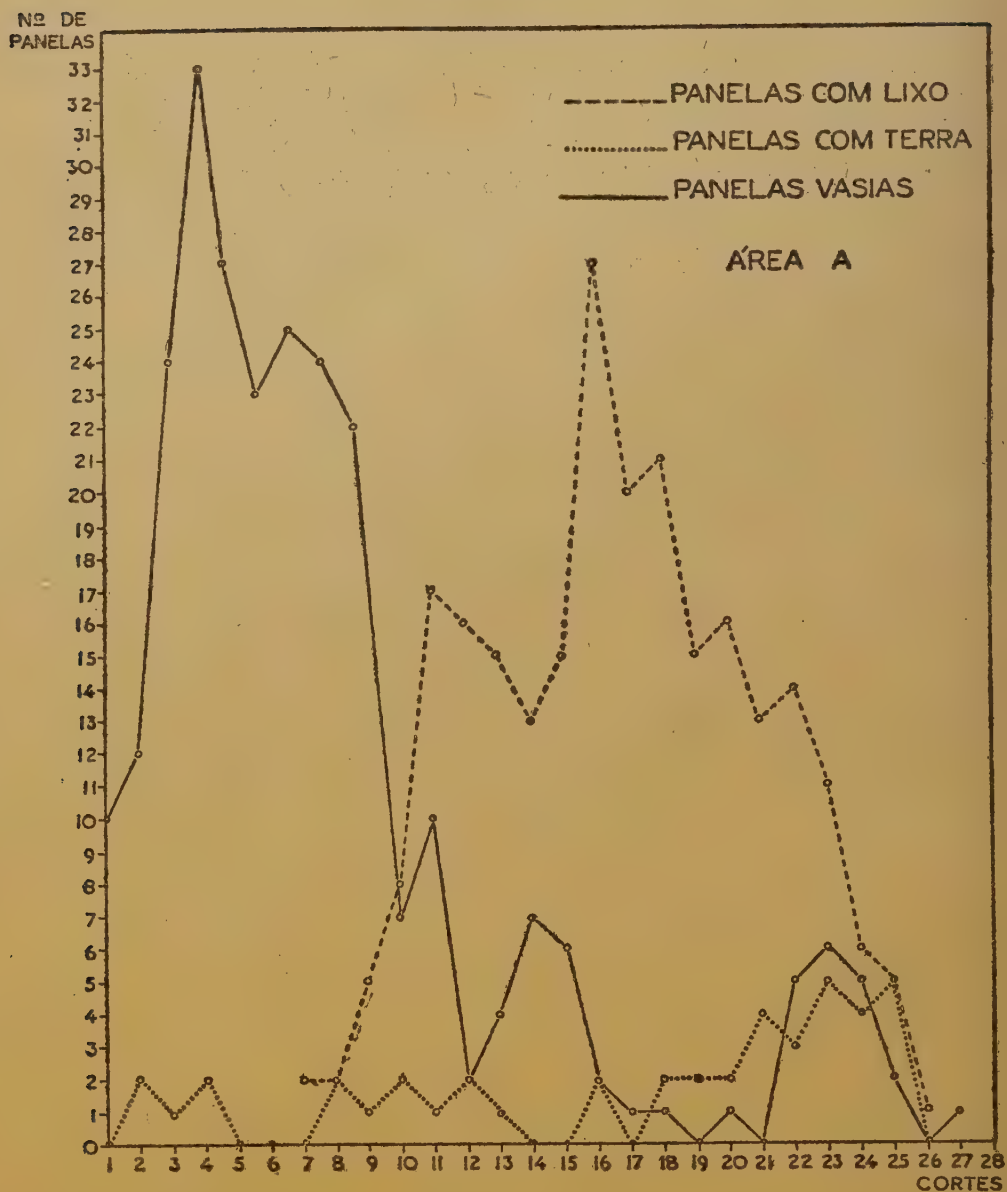
“ P a n e l a s ” v a z i a s — O que mais chama atenção nos dados acima é, sem dúvida, o elevado número de “panelas vazias” deste sauveiro. É nossa convicção que tais “panelas” são, na sua maioria, destinadas a conter as numerosas formas jovens dos sexuados e a grande massa de “esponja” de fungo com que se ali-

TABELA 5

Número de “panelas” e seu conteúdo, nos cortes da área A (fig. 1)

N.º DOS CORTES	P A N E L A S			
	Com Lixo	Com Terra	Vazias	Com Fungo
1	0	0	10	0
2	0	2	12	0
3	0	1	24	0
4	0	2	33	0
5	0	0	27	0
6	0	0	23	0
7	2	0	25	0
8	2	2	24	0
9	5	1	22	0
10	9	2	7	0
11	17	1	10	0
12	16	2	2	0
13	15	1	4	0
14	13	0	7	0
15	15	0	6	0
16	27	2	2	0
17	20	0	1	0
18	21	2	1	0
19	15	2	0	0
20	16	2	1	0
21	13	4	0	0
22	14	3	5	0
23	11	5	6	0
24	6	4	5	0
25	5	5	2	0
26	1	0	0	0
27	0	0	1	0
28	0	0	0	0

GRÁFICO 1



mentam suas larvas. É uma numerosíssima população flutuante, de indivíduos gigantes que o saueiro cria pelo prazo de cerca de seis meses e que, mesmo depois de adultos, ainda pode permanecer de um a dois meses no interior do saueiro, à espera da ocasião oportuna para abandoná-lo e empreender o vôo nupcial. Isso explica, ao nosso vêr, o elevado número de “painéis” que se encontram vazias nos saueiros adultos.

O número de indivíduos sexuados criados pela espécie *Atta sexdens rubropilosa* é realmente muito elevado. Em trabalho anterior (AUTUORI, M. - 1942, l. c.) demos os resultados da excavação de um sauveiro desta espécie, de quatro anos de idade, nas vésperas de dar revoada. As formas sexuadas que foram retiradas

TABELA 6

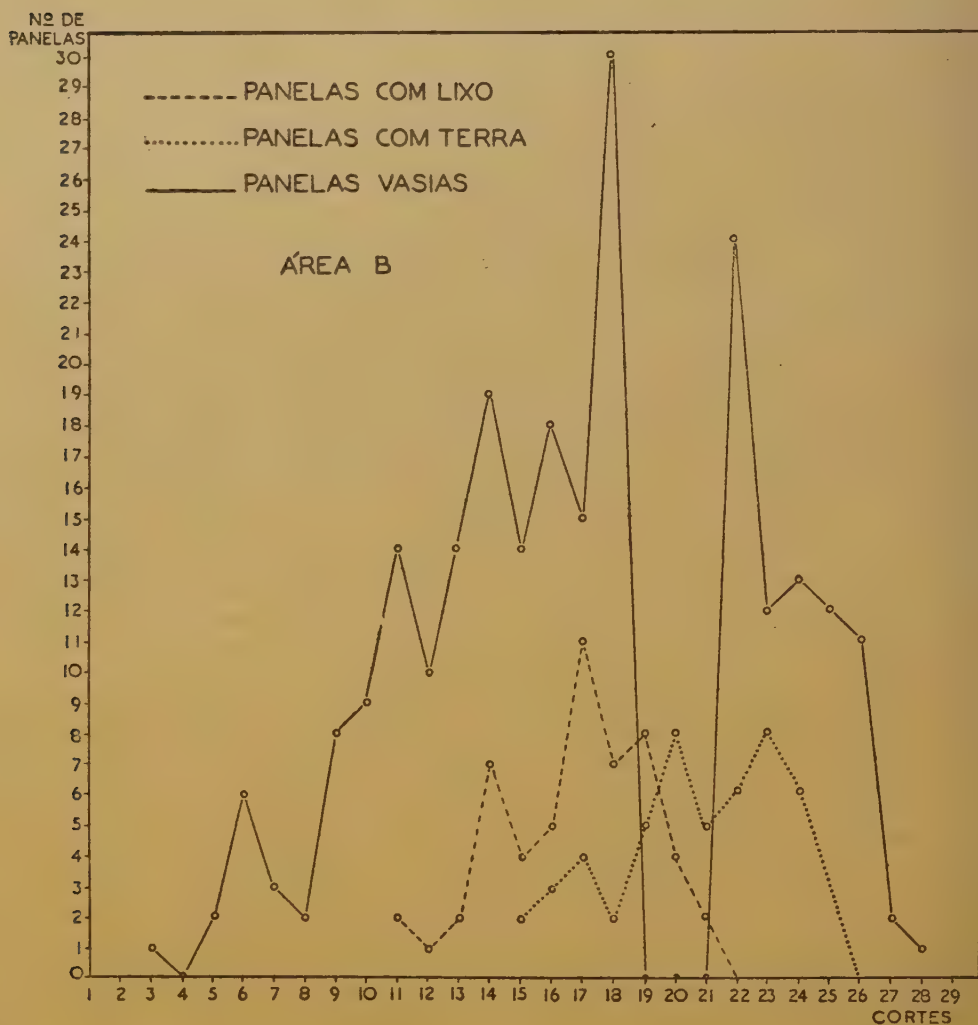
Número de “panelas” e seu conteúdo, nos cortes da área B (fig. 1)

N.º DOS CORTES	P A N E L A S			
	Com Lixo	Com Terra	Vasias	Com Fungo
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	1	0
4	0	0	0	0
5	0	0	2	0
6	0	0	6	0
7	0	0	3	0
8	0	0	2	0
9	0	0	8	0
10	0	0	9	0
11	2	0	14	0
12	1	0	10	0
13	2	0	14	0
14	7	0	19	0
15	4	2	14	0
16	5	3	18	0
17	11	4	15	0
18	7	2	30	0
19	8	5	0	0
20	4	8	0	0
21	2	5	0	0
22	0	6	24	0
23	0	8	12	0
24	0	6	13	0
25	0	0	12	0
26	0	0	11	0
27	0	0	2	0
28	0	0	1	0
29	0	0	0	0

das “panelas”, à medida que procedíamos à excavação, por meio de cortes consecutivos, alcançaram um total de 43.819 alados, sendo 38.481 machos e 5.338 fêmeas. EIDMANN (1935, “Zs. angew. Ent.”, Berlin, 22) também achou um número elevado de exemplares

sexuados, em excavação de um sauveiro desta mesma espécie (*Atta sexdens* sensu EIDMANN é igual a *Atta sexdens rubropilosa* FOREL). Esse autor contou 3.697 fêmeas e calculou a proporção de 10 machos para uma fêmea, o que dá um total de cerca de 41.000 exemplares sexuados, total comparável ao por nós verificado.

GRÁFICO 2



“P a n e l a s” c h e i a s d e t e r r a — O número de “painelas” desta classe foi de 157. Toda a terra nelas encontrada foi retirada, medida e incluída no total de terra solta de superfície do sauveiro. Obtivemos 187,440 litros de terra solta, que correspondem a 129,521 litros de terra acamada.

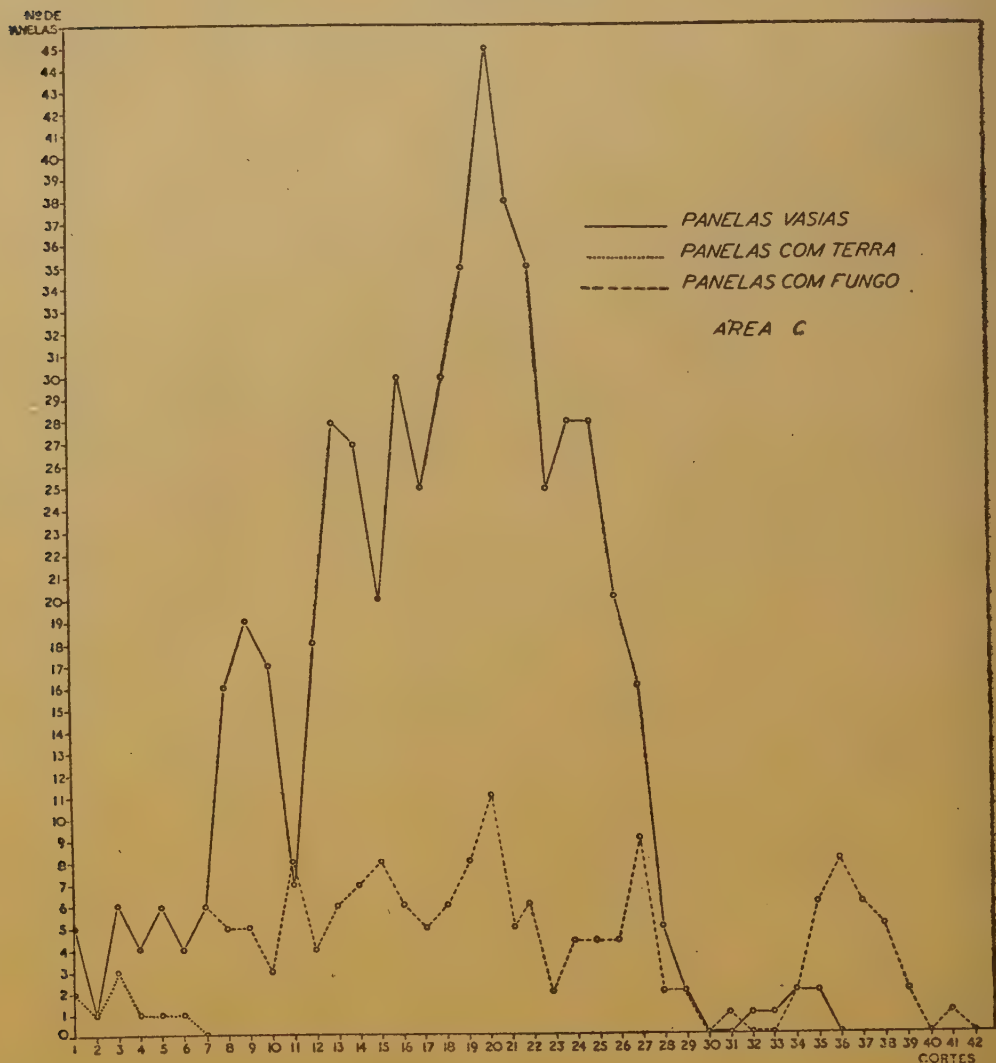
TABELA 7

Número de “panelas” e seu conteúdo, nos cortes da área C (fig. 1)

N.º DOS CORTES	P A N E L A S			
	Com Lixo	Com Terra	Vasias	Com Fungo
1	0	2	5	0
2	0	1	1	0
3	0	3	6	0
4	0	1	4	0
5	0	1	6	0
6	0	1	4	0
7	0	0	6	6
8	0	0	16	5
9	0	0	19	5
10	0	0	17	3
11	0	0	7	8
12	0	0	18	4
13	0	0	28	6
14	0	0	27	7
15	0	0	20	8
16	0	0	30	6
17	0	0	25	5
18	0	0	30	6
19	0	0	35	8
20	0	0	45	11
21	0	0	38	5
22	0	0	35	6
23	0	0	25	2
24	0	0	28	4
25	0	0	28	4
26	0	0	20	4
27	0	0	16	9
28	0	0	5	2
29	0	0	2	2
30	0	0	0	0
31	0	0	0	1
32	0	0	1	0
33	0	0	1	0
34	0	0	2	2
35	0	0	2	6
36	0	0	0	8
37	0	0	0	6
38	0	0	0	5
39	0	0	0	2
40	0	0	0	0
41	0	0	0	0
42	0	0	0	0

Essas “panelas” mostram-nos que nem toda a terra removida pelas formigas é levada para a superfície, mas pode ser depositada, em parte, em “panelas” vazias.

GRAFICO 3



“Panelas” de lixo — O lixo, constituído em grande parte de “esponja” esgotada, isto é, de partículas de folhas que já serviram de substrato ao fungo, é acumulado em “panelas”. Observações numerosas, no campo, nos autorizam a afirmar que a espécie *Atta sexdens rubropilosa* não retira do subsolo o lixo. Nunca observamos formigas desta espécie carregando lixo para

fora do sauveiro. Em outra excavação (AUTUORI, M. - 1942, l. c.), encontramos, além de várias “panelas”, de tamanho comum, cheias de lixo, uma grande “panela” de 1,20 m de diâmetro por 90 cm de altura, também cheia de lixo. No sauveiro n.º 42, todo o

TABELA 8

Número de “panelas” e seu conteúdo, nos cortes da área D (fig. 1)

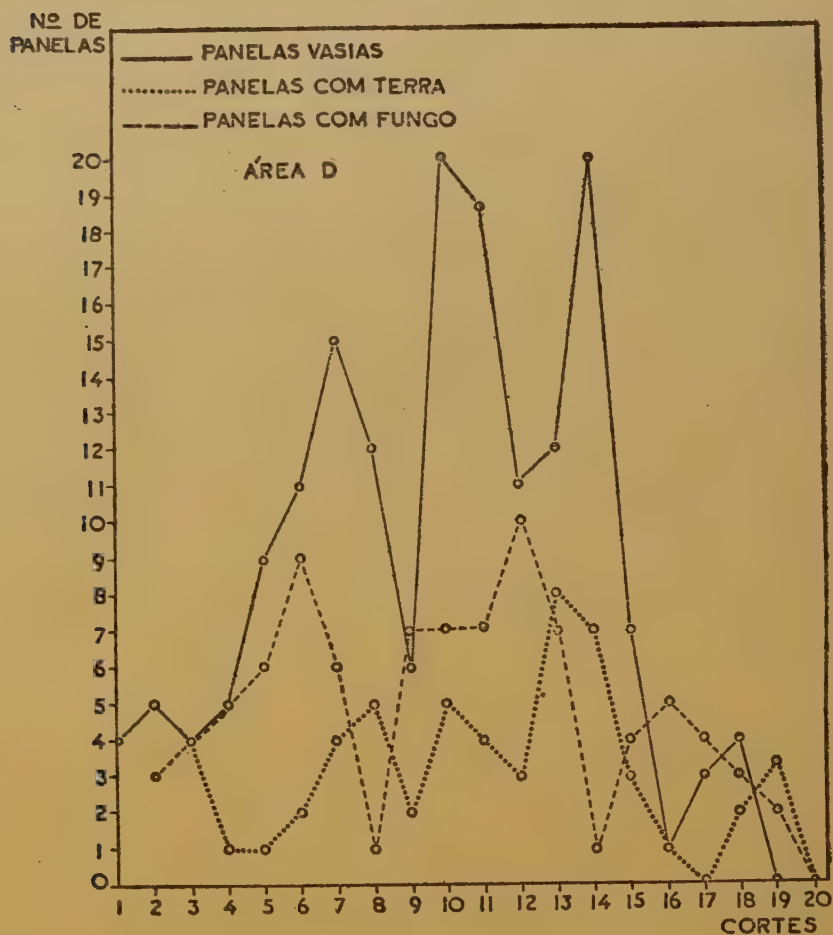
N.º DOS CORTES	P A N E L A S			
	Com Lixo	Com Terra	Vasias	Com Fungo
1	0	0	4	0
2	0	0	5	3
3	0	4	4	4
4	0	1	5	5
5	0	1	9	6
6	0	2	11	9
7	0	4	15	6
8	0	5	12	1
9	0	2	6	7
10	0	5	20	7
11	0	4	18	7
12	0	3	11	10
13	0	8	12	7
14	0	7	20	1
15	0	3	7	4
16	0	1	1	5
17	0	0	3	4
18	0	2	4	3
19	0	4	0	2
20	0	0	0	0

lixo foi encontrado em 296 “panelas” de tamanho normal. Duas apenas se destacavam por tamanho maior, uma de 37 cm de diâmetro por 40 de altura, compreendida nos cortes 11 e 12, e outra de 45 cm de diâmetro por 42 cm de altura, entre os cortes 19 e 22.

Medimos e pesamos todo o lixo encontrado. Obtivemos um total de 1.050,678 litros, pesando 475,200 quilos. Estamos certos de

que esta quantidade representa, praticamente, todo o lixo acumulado pelo saueiro nos seis anos e cinco meses de vida. (Vêr ainda, sobre este assunto, a experiência sobre a “Renovação da esponja”, mais adiante.)

GRÁFICO 4



“Painéis” de fungo — O número total de “painéis” de fungo foi de 248; destas, foram pesadas as “esponjas” de 184; as 64 restantes, devido a um engano, não foram tomadas em consideração, para efeito de pesagem.

À medida que iam sendo descobertas as “esponjas” de fungo eram retiradas e acondicionadas em recipientes fechados, e pesadas separadamente. Tomou-se o máximo cuidado no acondicionamento e pesagem das “esponjas” a-fim-de evitar, dentro do possível,

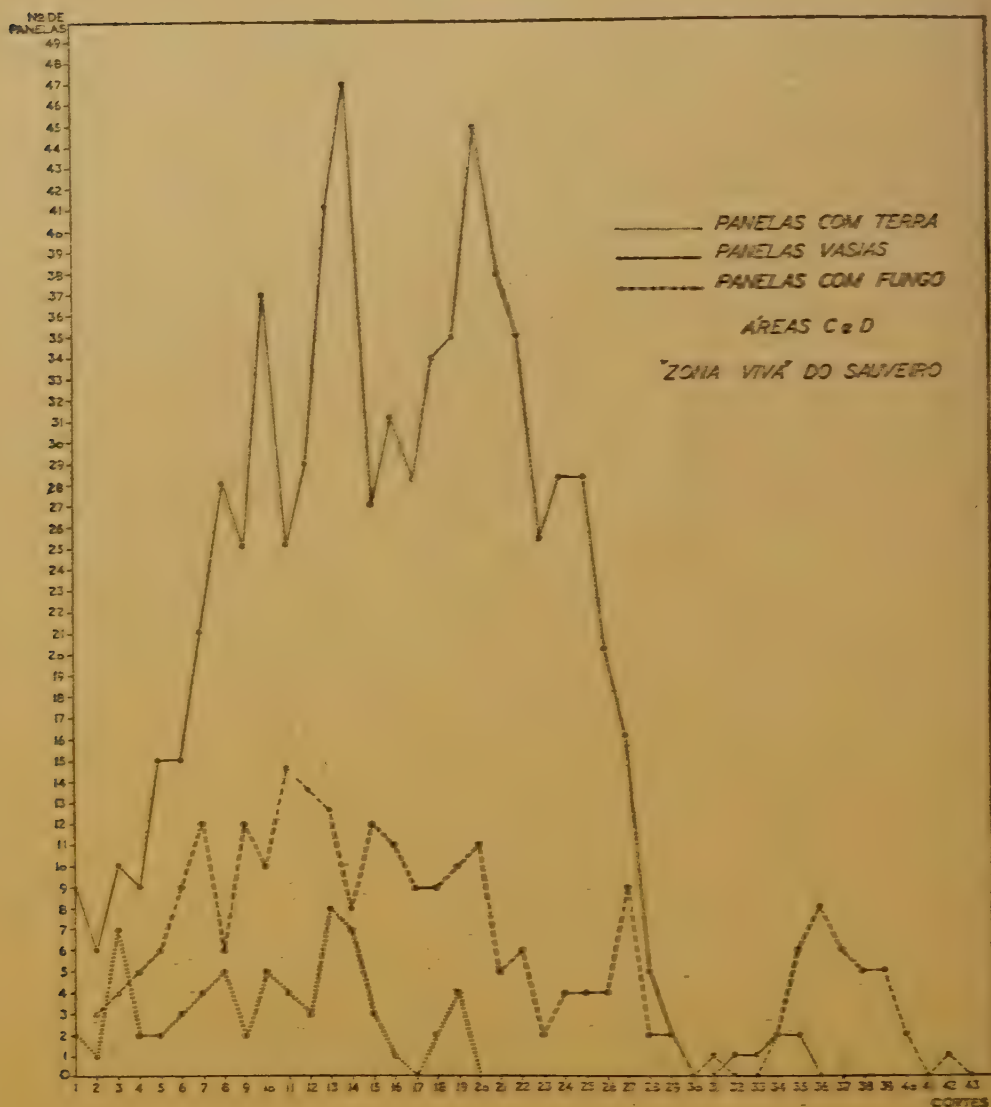
TABELA 9

Número de “panelas” e seu conteúdo, nos cortes das áreas C e D, correspondentes à zona “viva” do saueiro.

N.º DOS CORTES	P A N E L A S			
	Com Lixo	Com Terra	Vasias	Com Fungo
1	0	2	9	0
2	0	1	6	3
3	0	7	10	4
4	0	2	9	5
5	0	2	15	6
6	0	3	15	9
7	0	4	21	12
8	0	5	28	6
9	0	2	25	12
10	0	5	37	10
11	0	4	25	15
12	0	3	29	14
13	0	8	41	13
14	0	7	47	8
15	0	3	27	12
16	0	1	31	11
17	0	0	28	9
18	0	2	34	9
19	0	4	35	10
20	0	0	45	11
21	0	0	38	5
22	0	0	35	6
23	0	0	25	2
24	0	0	28	4
25	0	0	28	4
26	0	0	20	4
27	0	0	16	9
28	0	0	5	2
29	0	0	2	2
30	0	0	0	0
31	0	0	0	1
32	0	0	1	0
33	0	0	1	0
34	0	0	2	2
35	0	0	2	6
36	0	0	0	8
37	0	0	0	6
38	0	0	0	5
39	0	0	0	5
40	0	0	0	2
41	0	0	0	0
42	0	0	0	1
43	0	0	0	0

a presença de qualquer corpo estranho (terra, raízes, pequenas pedras, etc.). As formigas maiores foram retiradas em sua maioria. Também tivemos o cuidado de efetuar as pesagens à medida que as “esponjas” eram retiradas, antes portanto de seu dessecamento.

GRÁFICO 5



Damos, na Tabela 10, a relação e o peso das 184 “esponjas” de fungos e sua localização no sauveiro, pela numeração dos cortes.

O peso total das 184 “esponjas” de fungo foi de 62,741 quilos.

TABELA 10

Peso, em gramas, das esponjas de fungo do sauveiro n.º 42

Numeração dos Cortes	Peso das Esponjas de Fungo	Numeração dos Cortes	Peso das Esponjas de Fungo	Numeração dos Cortes	Peso das Esponjas de Fungo	Numeração dos Cortes	Peso das Esponjas de Fungo
3	250	11	405	16	70	23	425
4	150	11	100	16	68	23	367
4	485	11	15	16	140	23	140
5	670	11	120	16	220	24	140
5	380	11	90	16	164	24	365
6	420	11	280	16	474	24	55
6	440	11	480	16	168	25	700
6	620	11	373	16	57	25	255
6	390	11	108	16	239	25	420
6	620	12	325	17	65	26	1170
6	190	12	300	17	145	26	297
6	515	12	200	17	65	26	405
6	380	12	377	17	280	26	767
7	533	12	138	17	368	26	38
7	540	12	382	17	265	26	45
7	88	12	138	17	325	27	830
7	735	12	330	18	135	27	200
7	143	12	265	18	210	27	325
7	140	12	407	18	132	28	600
7	377	13	778	18	320	28	235
7	270	13	470	18	273	29	604
8	65	13	550	18	138	31	45
8	260	13	368	19	185	34	640
8	150	13	474	19	113	35	2250
8	200	13	755	19	380	35	735
8	150	13	215	19	257	35	915
8	180	13	227	19	383	35	560
8	165	13	163	19	335	35	440
8	40	13	165	19	180	35	230
9	135	14	175	19	157	36	1075
9	540	14	115	19	187	36	555
9	850	14	195	20	385	36	1020
9	62	14	300	20	389	36	430
9	160	14	383	20	442	36	695
9	295	14	120	20	289	36	325
9	250	14	277	20	484	37	505
9	260	15	515	20	432	37	920
9	120	15	695	20	697	37	582
10	30	15	700	20	177	37	165
10	430	15	212	20	137	38	375
10	313	15	210	21	467	38	225
10	222	15	315	21	187	38	425
10	359	15	15	21	290	38	285
10	125	15	417	21	72	38	245
11	450	15	381	22	313	39	265
11	190	16	423	22	328	41	65

Todas as “painéis” com fungo estavam localizadas nas áreas C e D (fig. 1). Quanto ao peso, assim distinguimos as “esponjas” de fungo:

"Esponjas" acima de 2.000 gr	1	(2.250 gr).
" " " 1.000 gr	3	(de 1.020 a 1.175 gr).
" " " 600 gr	20	(de 600 a 900 gr).
" " " 300 gr	65	(de 300 a 590 gr).
" " " 100 gr	76	(de 100 a 295 gr).
" " " 15 gr	17	(de 15 a 99 gr).

As seis maiores "panelas" que continham fungo também foram medidas:

1) — 32	cm de diâmetro	por 26	cm de altura.
2) — 35	" " " "	38	" " "
3) — 42	" " " "	35	" " "
4) — 45	" " " "	38	" " "
5) — 47	" " " "	42	" " "
6) — 54	" " " "	49	" " "

VI — VÁRIAS

Renovação da "esponja" — Como já dissemos, o lixo é constituído, em sua maior parte, de vegetais exgotados, que serviram de substrato para o fungo. Diante desse fato, resolvemos fazer algumas experiências para tentar a obtenção de dados que nos permitissem calcular, aproximadamente, a quantidade de vegetais de que as formigas do saueiro n.º 42, se utilizaram, realmente, no decorrer de sua vida, isto é, em seis anos e cinco meses.

Para um cálculo desta natureza tornava-se necessário saber qual a relação entre a quantidade de folhas e a quantidade de lixo. Recorremos, então, a um dos nossos saueiros de laboratório. Escolhemos um, da espécie *Atta sexdens rubropilosa*, com uma só "panela" de fungo. Isolamo-lo sobre uma mesa, de maneira a permitir a colheita diária e total do lixo que as formigas retirassem da "esponja".

Privada de vegetais durante três dias, a superfície da "esponja" tornou-se mais escura e isso permitiu-nos acompanhar seu desenvolvimento a partir do momento em que se reiniciou o fornecimento de vegetais. Passamos, então, a dar à colônia folhas e pétalas de roseiras, folhas de laranjeiras e mesocarpo de laranjas, adotando o seguinte método: Todos os dias, pela manhã, pesavamos com aproximação de miligrama, certa quantidade de vegetais, dividida em duas partes iguais; colocava-se uma delas ao alcance das formigas, para ser levada ao saueiro; depositava-se a outra (testemunha) ao lado do saueiro, mas fora do alcance das formigas. No dia seguinte, colhíamos cuidadosamente tudo o que as formigas ainda não haviam carregado para a "esponja" e procedíamos a uma rigo-

TABELA 11

Pesagens diárias das quantidades de vegetais empregadas para a renovação de uma "esponja de fungo" de *Atta sexdens rubropilosa*.

RAÇÕES E TESTEMUNHAS (1)			TESTEMUNHAS E SOBRAS DAS RAÇÕES			
Dias do mês de Outubro 1944	Materiais	Pêso (em gramas)	Dias do mês de Outubro 1944	PÊSO (em gramas)		
				Testem.	Sobras	Materiais aproveitados (2)
3	F. Ros. (3)	5,000	4	3,115	0,844	2,271
3	F. Lar. (4)	5,000	4	2,820	2,292	0,528
4	F. Ros.	5,000	5	3,167	0,667	2,500
4	P. Ros. (5)	2,000	5	0,565	0,062	0,503
4	F. Lar.	5,000	5	2,868	2,225	0,643
5	F. Lar.	5,000	6	2,312	2,119	0,193
5	F. Ros.	5,000	6	2,383	1,599	0,784
5	P. Ros.	5,000	6	1,291	0,225	1,066
6	F. Lar.	5,000	7	2,436	2,375	0,061
6	F. Ros.	5,000	7	2,579	0,615	1,964
6	P. Ros.	5,000	7	1,602	0,021	1,581
7	P. Ros. (7)	10,000	9	6,752	0	6,752
7	F. Ros.	5,000	9	3,517	0	3,517
9	P. Ros.	10,000	10	6,485	0,805	5,680
9	F. Ros.	10,000	10	7,660	4,790	2,870
10	P. Ros.	10,000	11	9,000	3,775	5,225
10	F. Ros.	10,000	11	8,822	5,800	3,022
11	P. Ros.	10,000	12	8,383	4,855	3,528
11	F. Ros.	10,000	12	7,335	3,145	4,210
12	P. Ros.	10,000	13	8,320	3,650	4,670
12	F. Ros.	5,000	13	4,390	2,390	2,000
12	M. Lar. (6)	10,000	13	8,710	0,500	8,210
13	P. Ros.	5,000	14	3,520	2,160	1,360
13	F. Ros.	5,000	14	4,350	3,050	1,300
13	M. Lar.	10,000	14	9,000	2,570	6,430
14	P. Ros.	10,000	16	4,485	0	4,485
14	F. Ros.	10,000	16	8,080	3,250	4,830
14	M. Lar.	10,000	16	7,650	0	7,650
16	F. Ros.	10,000	17	8,400	4,800	3,600
16	P. Ros.	10,000	17	8,370	2,735	5,635
17	F. Ros.	10,000	18	7,310	3,629	3,690
17	P. Ros.	10,000	18	5,105	3,395	1,710
18	F. Ros.	10,000	19	9,195	4,450	4,745
18	P. Ros.	5,000	19	4,360	0,117	4,243
19	P. Ros.	10,000	20	8,870	3,270	5,600
19	F. Ros.	10,000	20	9,450	7,420	2,030
19	F. Lar.	5,000	20	4,610	0,550	4,060
20	P. Ros.	10,000	21	8,902	6,340	2,562
20	F. Ros.	10,000	21	9,495	6,990	2,505
20	F. Lar.	10,000	21	9,550	4,660	4,880
21	P. Ros.	10,000	23	8,645	3,090	5,555
21	F. Ros.	10,000	23	7,820	3,890	3,930
21	F. Lar.	15,000	23	14,020	7,050	6,970
23	P. Ros.	10,000	24	9,413	6,218	3,195
23	F. Ros.	10,000	24	9,375	4,530	4,845
23	F. Lar.	10,000	24	9,057	6,720	2,337
24	P. Ros.	10,000	25	9,470	5,150	4,320
24	F. Ros.	10,000	25	9,520	7,000	2,520
24	F. Lar.	10,000	25	9,480	6,700	2,780
25	P. Ros.	10,000	26	9,170	6,650	2,520
25	F. Ros.	10,000	26	9,480	6,665	2,815
25	F. Lar.	10,000	26	9,700	8,007	1,693
26	P. Ros.	10,000	27	8,790	5,610	3,180
26	F. Ros.	10,000	27	9,410	4,780	4,630
26	F. Lar.	10,000	27	9,690	8,400	1,290

(1) Testemunhas e rações com pesos iguais. (2) Materiais para a confecção da "esponja de fungo". (3) F. Ros. = Fôlhas de roseiras. (4) F. Lar. = Fôlhas de laranjeiras. (5) P. Ros. = Pétalas de rosas. (6) M. Lar. = Mesocarpio de laranjas. (7) Desta data em diante, as rações diárias e as respectivas testemunhas foram colocadas em ambiente húmido, o que evitou dessecação rápida dos vegetais.

rosa pesagem. Também pesavamos a testemunha e verificavamos a perda de peso, ocasionada pela evaporação de água. Ficavamos, pois, conhecendo com relativa exatidão, a quantidade de vegetais realmente aproveitada pela colônia. Diariamente pesavamos também o lixo que as formigas haviam retirado da “esponja” e que, repetimos, é constituído de vegetais que já serviram de substrato para o fungo.

Após 21 dias, a “esponja” de fungo renovára-se totalmente, isto é, toda a “esponja” de que o sauveiro agora dispunha fôra constituída exclusivamente por uma quantidade conhecida de vegetais, ocupando o mesmo espaço anteriormente tomado pela “esponja” primitiva. O total de vegetais aproveitados foi de 185,673 gr, assim distribuídos: 25,435 gr de folhas de laranjeiras; 22,290 gr de mesocarpo de laranjas; 64,578 gr de folhas de roseiras e 73,370 gr de pétalas de rosas. O total do lixo foi de 14,914 gr.

Dividindo estes dois totais um pelo outro, obtivemos o quociente 12,4 que representa a relação entre os vegetais e o lixo (12,4 partes de vegetais correspondem a 1 parte de lixo), admitida a equivalência das duas parcelas.

Damos, na Tabela 11, as pesagens diárias dos vegetais oferecidos ao sauveiro.

Se aplicarmos estes dados ao sauveiro n.º 42, chegaremos à conclusão de que êle utilizou pelo menos 5.892 quilos de vegetais, pois este é o total obtido pela multiplicação de 475,200 quilos de lixo pelo quociente 12,4.

Queremos deixar aqui assinalada a nossa gratidão ao Snr. Miguel C. Leite, pelo auxílio que nos prestou em todas as experiências e observações registradas neste trabalho; e aos Snrs. E. Navajas e R. L. Araujo, por sugestões e auxílio na revisão do manuscrito.

CONTRIBUTION TO THE KNOWLEDGE OF THE “SAUVA”

(*Atta* spp. — Hymenoptera — Formicidae)

IV — The Sauva-nest after the first nuptial-flight

(*Atta sexdens rubropilosa* FOREL, 1908)

A b s t r a c t

The present paper deals chiefly with the second phase of the development of one of the sauva-nests observed in an experimental field. The second phase starts after the first nuptial flight (Revoada), that is, after the ant colony has attained its sexual maturity.

This colony, n.º 42, was founded on September 9, 1937; its first nuptial flight took place on December, 1940; it was excavated in consecutive sections, when 6 years and 5 months old.

In a previous paper (Autuori, M.-1941) the observations on this saúva-nest, from its foundation to its first nuptial flight, are reported.

All of the entrances (olheiros) were numbered in chronological order. The number of entrances opened during the six years and five months totaled 1,830, viz.: 1 in the 1st. year; 162 in the second, 690 in the third; 296 in the fourth; 317 in the fifth and 364 in the sixth. Tables 2 and 3 show the results of the several countings of open and closed entrances. The general average of open entrances, in 1941, was 53.7 percent and, in 1943, 47.9 percent of the total of entrances.

Considerations are made on the longevity of the *Atta* colonies and observations are reported on a colony of *Asexdens rubropilosa* that has been kept alive in the laboratory for 12 years, the last 7 of which in the Instituto Biológico. This colony is, at the present time, 14 years old, as it was one and a half years old in July, 1935, when transferred from the field to the laboratory. It was handed over to the author in November, 1940.

The queen of this nest was removed from the colony and kept apart, with a fungus "sponge", during five months. During this period five trials were made to provide the orphan colony with a new queen of the same species. The new queens were always thrown out by the workers. After five months the legitimate queen was again installed and was immediately accepted by the workers.

Although 14 years old, this colony never produced alates. The same is true of two other several year old laboratory colonies, in which neither alates nor their pupae or larvae were ever observed. On the other hand, laboratory *Acromyrmex* colonies give forth alates regularly, every year. The development of laboratory *Atta* colonies, when compared with those in the field, is quite reduced. The noteworthy proportions the saúva-nests attain in nature, are dependant on the breeding of alates. Considerations are made on this subject.

The loose soil on the surface of nest n.º 42 was studied before excavation. The total area of loose soil was observed to be divided into four parts (Fig. 1, A-D) which corresponded to the places where

the four nuptial flights of this colony had taken place, a lateral displacement having occurred annually preceding the nuptial flights.

The total number of the entrances for the movement of earth in the whole area of loose soil, was 737. On January 1944, before the excavation of the nest, it was observed that only 132 entrances were in use. Table 4 shows the number of open and closed entrances in each of the four divisions of the loose soil area. There was 22.720 m³ of loose soil, corresponding to 15.700 m³ of packed soil, the factor of conversion from loose to packed soil having been determined as 0.691. The approximate weight was found to be 40,000 kilograms.

After the removal of the loose soil, 99 entrances were counted in the firm soil beneath it. The tunnels apparently branch in the loose soil on the surface of the nest.

The excavation was made in vertical sections, 20 cms thick, according to the method described in a previous paper (Autuori, M. 1942). Thirty sections, 5.80 m wide, were made in area A (Fig. 1); 30 sections, 8 m wide in area B; 45 sections 3 m wide in area C and 22 sections, 9 m wide in area D. Most of the sections in the A and B areas were 3.50 m deep, the majority of the refuse chambers being found below 2.50 m.

A total of 1,920 chambers was counted: refuse chambers, 296; soil filled chambers, 157; fungus chambers, 248; empty chambers, 1,219. Fungus chambers, corresponding to the Vital Zone of the nest, as defined in a previous paper, were located in areas C and D only; the refuse chambers in areas A and B only. Empty chambers and chambers filled with loose soil were found in all of the zones. Besides commenting on the chambers of each class, the author calls attention to the great number of empty ones as he believes that they shelter the great population of sexuate forms, during their developmental phase, and the great mass of fungus "sponges" needed for its feeding.

As the chambers were opened, their contents were taken out and weighed. The weights of 184 "sponges" are registered in Table 10.

All of the refuse from nests of *A. sexdens rubropilosa* is made up almost exclusively of exhausted "sponges" and is stored in underground chambers. Refuse was never observed to be carried out of the nests of this species. The refuse found measured 1,050.678 liters and weighed 475.200 kilograms.

The relation between the refuse and vegetal material used by the "sauvas" for the building of the "sponges" was studied. It was found that 1 part of the refuse corresponds to 12,4 parts of the vegetal material. The observations were made on a small laboratory nest, with one "sponge" only. Both the vegetal particles that were used by the colony and the refuse were daily weighed. By applying the results thus obtained to the sauva nest n.º 42, the author concluded that during its life (6 years and 5 months) this colony used up at least 5,892 kilograms of vegetal materials.

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Estampa 3

- Fig. A — Aspecto geral, externo, do Sauveiro n.º 42, com os seus olheiros marcados.
- Fig. B — O total de terra solta retirada da superfície do Sauveiro n.º 42.

Estampa 4

- Fig. C — Superfície do Sauveiro depois de removida a terra solta, marcados os olheiros em atividade.
- Fig. D — Aspecto geral do Sauveiro de laboratório, de 14 anos de idade, vendo-se diversas garrafas que contêm fungo.



A



B



C



D

FORESE E PARTENOGENÊNESE ARRENÓTOCA EM "MACROCHELES MUSCAEDOMESTICAE" (SCOPOLI) ("ACARINA: MACROCHELIDAE") E SUA SIGNIFICAÇÃO ECOLÓGICA

POR

C. Pereira & M. P. de Castro
Do Instituto Biológico de S. Paulo
Com 1 figura no texto

INTRODUÇÃO

A questão da partenogênese nos ácaros da coorte *Gamasides* (*Parasitiformes: Mesostigmata*) já é bem antiga no referente às espécies fimícolas. Entretanto o que os primeiros autores entenderam de considerar manifestações do fenômeno não passou de um mal-entendido, que surgiu em consequência não só da vida curta dos machos, que contrasta com a longevidade das fêmeas, como da dificuldade em que se viram de destrinçar as espécies no complexo deste tipo de fauna fimícola.

A primeira observação, considerada como sugestiva, da existência de partenogênese em *Macrocheles muscaedomesticae* (SCOPOLI, 1772) (= *Gamasus stercorarius* KRAMER) foi feita por KRAMER (1876), que ficara impressionado pela escassez de machos no material por êle estudado.

G. CANESTRINI (1881) admitiu, como explicação para a observação de KRAMER, que a espécie pudesse reproduzir-se por partenogênese. G. CANESTRINI & R. CANESTRINI (1882) insistiram na idéia da partenogênese, que associaram à de um polimorfismo particular, segundo o qual diversas espécies que conviviam nas esterqueiras eram consideradas como "formas de desenvolvimento", "formas sexuais" e "formas de adaptação" de uma espécie hipotética, eminentemente polimórfica, à qual denominaram *Holostaspis marginatus* (HERM.), e que compreenderia: "la prima forma giovanile", "la seconda forma giovanile" (= *M. muscaedomesticae*) e "la femmina adulta (*Gamasus tardus* KOCH)".

BERLESE (1881, 1882 *a b*) aproveita a concepção dos CANESTRINI (1882), tornando-a entretanto mais complexa, pela admissão de que

os adultos fossem vivíparos, e dessem origem logo a proteroninfas. Estas seriam o ponto de partida de duas linhagens distintas: uma, a série normal, passaria por três estádios ninfais (proto, deuto e tritoninfa) e chegaria ao estágio adulto, com machos e fêmeas; outra, a série anômala, seria caracterizada pela existência de três formas partenogenéticas: a primeira proviria das proteroninfas e, caso não comesasse a se multiplicar partenogeneticamente, originaria a segunda; esta, que poderia provir também das protoninfas normais, se não apresentasse partenogênese, daria origem à terceira; esta, por sua vez (= *M. muscaedomesticae*), que poderia provir também de uma deutoninfa normal, caso não proliferasse partenogeneticamente, transformar-se-ia nos adultos, que poderiam provir também das tritoninfas da série normal. As três ninfas capazes de partenogênese constituiriam a série das ninfas ebantomórficas, entremeiadas com ninfas hialinas, em metamorfose, que se contraporiam à série normal de ninfas. A partenogênese das ninfas ebantomórficas seria, portanto, telítica, além de progenética. Os “adultos” seriam gamogénéticos.

Entretanto MICHAEL (1881) demonstrara que no ciclo vital de outras espécies (*Gamasus coleoptratorum* L. e *G. crassipes* L.) havia apenas um estágio proteroninfal e dois ninfais, o que criava uma situação difícil para as tritoninfas de BERLESE.

BERLESE (1889) parece recuar um tanto da partenogênese admitida anteriormente, descrevendo machos correspondentes às “nymphae generantes”, que passariam a ser mais progenéticas do que partenogenéticas. A espécie continuaria a ter uma série normal, agora com proteroninfa, ninfas e adultos, e uma série anômala, com protoninfa, deutoninfa (= *M. muscaedomesticae* = *Holostaspis badius* KOCH *apud* BERLESE) e os adultos, além de mais três formas intermediárias, das quais duas de fêmeas e uma de macho. Tais idéias iriam repontar ainda no seu trabalho de 1918, em que admitiu, para o que denominou *Holostaspis marginatus americanus* BALZAN *et* BERLESE, nada menos de quatro formas diversas, que correspondem na realidade a outras tantas espécies.

FoÁ (1900) conseguiu criar pela primeira vez algumas espécies fimícolas do grupo, inclusive *Holostaspis badius* (KOCH-BERLESE) (= *M. muscaedomesticae*), demonstrando claramente a inexistência do que BERLESE considerava polimorfismo, e negando também a

ocorrência de partenogênese, pois conseguira identificar os machos das formas fêmeas conhecidas de BERLESE.

Assim, pareceu ficar o assunto encerrado, pois os fatos aparentemente estranhos que haviam servido de apoio à hipotética partenogênese dos outros autores italianos ficavam muito bem esclarecidos pelas pesquisas de FoÁ. De fato esta autora deixara também demonstrado que a deficiência ocasional de machos era fenômeno antes estacional, característico do inverno, devido à menor longevidade deles, o que se corrigia logo na primavera seguinte, quando era fácil encontrá-los nas condições naturais.

Outro possível indício de partenogênese foi encontrado por TROUESSART (1902) na mesma coorte, em *Railletia auris* (LEIDY), espécie em que achou apenas dois machos para cerca de quinhentas fêmeas. Imaginou que ocorreria habitualmente uma partenogênese telitoca, e que só no inverno apareceriam os machos. Entretanto FREUND (1910) teve a oportunidade de encontrar na mesma espécie, em outubro e novembro, quantidades sensivelmente iguais de machos e de fêmeas, o que torna duvidosa a alegada partenogênese, baseada apenas nesse motivo.

No gênero *Dinogamasus* KRAMER nota-se também tal escassez de machos, que levou BERLESE (1925) a conjecturar, quando ainda não se conhecia nenhum, se existiriam mesmo. Entretanto, VITZTHUM (1930) assinalou o primeiro em *D. amaniensis* VITZTHUM, o que veio deixar em aberto também esta questão.

Finalmente OHMORI (1936) conseguiu demonstrar, pela primeira vez, nesta coorte, um caso autêntico de partenogênese, arrenóloca e facultativa, em *Liponyssus bacoti* HIRST. Verificou, experimentalmente, que a progênie de uma fêmea gamogenética apresenta-se inicialmente com uma deficiência numérica de machos; a proporção destes tende a aumentar, entretanto, no decorrer da ovipostura, de tal modo que seu terço final é constituído exclusivamente por machos. Além disso, a progênie das fêmeas partenogenéticas compõem-se sempre apenas de machos. Os ovos que geram machos não seriam fertilizados.

Tivemos os primeiros indícios da existência de partenogênese em *Macrocheles muscaedomesticae* já em 1943, ao começarmos as criações individuais do ácaro para esclarecimento do ciclo vital e da morfologia da espécie, cujos resultados já foram publicados (1945). Entretanto a massa de trabalho material exigida por essa

publicação e a enorme complexidade da bibliografia com ela relacionada, em particular no referente à taxonomia, impediram-nos de abordar então o problema, o que só agora é feito, e assim mesmo apenas do ponto de vista genético, com vistas para suas repercussões ecológicas. Pretendemos tratar oportunamente do seu mecanismo citológico, assunto em que fomos mal sucedidos nas investigações preliminares.

MATERIAL E TÉCNICA

Inicialmente, o material que serviu para o presente trabalho estava sendo criado segundo a técnica de PEREIRA & CASTRO (1945, 1946), cujas vantagens do ponto de vista da manutenção da humidade foram demonstradas por TRAVASSOS FILHO & PEREIRA (1947). Entretanto a necessidade de isolar as fêmeas da sua prole exigiu

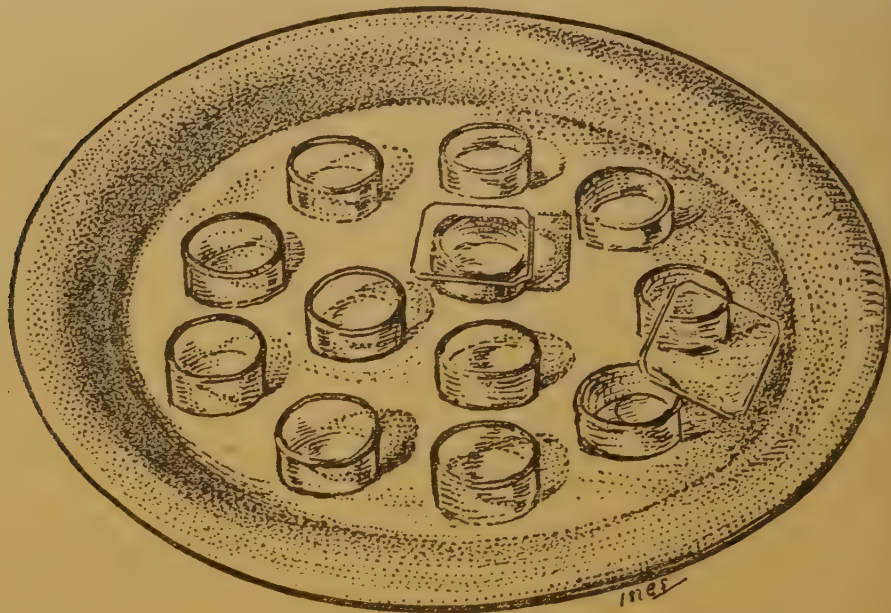


Fig. 1 — Câmaras individuais de criação.

modificações substanciais nas câmaras de criação, embora respeitando os princípios já assentados.

De fato a necessidade de isolar sucessivamente a progênie de uma fêmea, mantendo o suprimento diário de ovos de moscas para todos os indivíduos isolados, exigia o emprego de câmaras pequenas, inspecionáveis facilmente à lupa binocular, de modo a garantir a exatidão dos resultados obtidos, o que se conseguiu com o dispositivo descrito a seguir.

Pratos de moringa, de barro poroso, com cerca de 12,5 cm de diâmetro e 13 mm de altura, constituíam o piso, permeável à humidade, das câmaras individuais de criação; eram mantidos sempre numa bandeja grande de ferro ágata, que continha um pouco d'água no fundo.

Em cada prato desses dispunham-se 12 câmaras individuais, sendo 9 em círculo, equidistantes, junto à periferia, e as 3 restantes formando um triângulo, internamente (Fig. 1).

Cada câmara individual era construída cortando-se uma vara de vidro, de cerca de 14 mm de diâmetro, em segmentos de 10 mm de comprimento. Uma vez aparelhados os rebordos desses anéis de vidro, numa pedra de afiar, o comprimento resultante iria ser a altura das câmaras (8-9 mm).

No começo fazíamos as câmaras com anéis de porcelana, cortados de velas esterilizantes Chamberland, inutilizadas. Foram postos de lado, entretanto, em favor do vidro, não só pela opacidade, como pela excessiva permeabilidade à água, responsável por alguns malogros no início dos trabalhos.

Cada anel de vidro tinha seu lugar delineado a lapis, tanto interna como externamente, no fundo do prato de barro poroso. Escavava-se, por meio de um estilete de ferro, cerca de 1 mm de profundidade nos lugares marcados, obtendo-se sulcos circulares que oferecessem encaixe aos anéis de vidro. Pronto esse trabalho, os anéis eram bem ajustados nos respectivos sulcos e firmados com uma pasta fresca de cimento comum (tipo Portland). Depois de bem secas, durante alguns dias, eram as câmaras lavadas em água corrente, após o que ficavam prontas para usar.

Começamos cobrindo cada câmara individual com uma lâmina, mas a fragilidade desse material obrigou-nos a dar preferência a segmentos de lâminas para microscopia, que deram resultados excelentes.

No fundo do prato, ao lado de cada câmara individual, escrevia-se a lapis o número correspondente, de modo a identificá-las com rapidez e segurança, permitindo exatidão na anotação dos resultados.

Para evitar fugas, ou outros acidentes por queda das tampas, é necessário que estas fiquem bem aderentes ao anel de vidro. Por outro lado, tal requisito deve conciliar-se com a necessidade de abrir diariamente as câmaras, para fornecer alimento fresco e retirar as

ninfas que já emergiram. As substâncias de ponto de fusão mais elevado, como a parafina ou a cera de abelhas, tinham o inconveniente de precisarem ser aquecidas, antes da aplicação, e às vezes descolavam. Substâncias mais moles, como a vaselina ou a lanolina, seguravam bem a tampa, mas faziam perder alguns bichos, que a elas aderiam e morriam.

Finalmente resolvemos satisfatoriamente a questão, fundindo mistura, em partes aproximadamente iguais, de parafina (P. F. 57-58° C) e de lanolina, aplicável a frio, suficientemente firme para não grudar os bichos, e com a qual não houve mais nenhum acidente.

EXPERIÊNCIAS RELATIVAS À PARTENOGENESE

Foram realizadas perto de quatro dezenas de criações experimentais nas câmaras em pratos de moringa, variando a proveniência do material de partida, que eram fêmeas, ora viajoras, ora colhidas em esterqueira, outras vezes da criação-estoque mantida nas câmaras descritas em 1946.

Procedia-se diariamente ao isolamento das novas ninfas que emergiam, em câmaras separadas, a não ser quando se desejava avaliar os resultados da criação em promiscuidade por algum tempo.

Como os resultados obtidos foram sempre concordes e inequívocos, torna-se supérfluo seu tratamento estatístico.

Numa das experiências preliminares, uma fêmea forética em mosca doméstica foi isolada em 1º/VI/1944, quando começou a ser alimentada diariamente com ovos de moscas: quatro dias depois (6/VI) haviam emergido 2 machos, que foram deixados em promiscuidade; depois de mais dois dias (8/VI) surgiam mais 4 machos, sendo então todos eles retirados; depois de outros quatro dias apareceu 1 fêmea; a fêmea em observação morreu, sendo a experiência interrompida.

Neste caso, verifica-se que a primeira fêmea que emergiu chegou à maturidade entre 2 e 4 dias depois do aparecimento dos machos. O desconhecimento da história da fêmea em observação impediu que na ocasião se tirassem conclusões seguras relativamente à sua partenogênese. Entretanto o ritmo acelerado com que a prole surgiu indica uma vitalidade, como veremos em experiências seguintes, que sugere a plausibilidade da hipótese, que é corroborada pela desproporção entre machos e fêmeas, e pelo aparecimento da única destas no fim da experiência. Além disso, as observações se-

guintes vieram confirmar que, geralmente, as fêmeas foréticas são partenogenéticas.

O Gráfico I expõe os resultados obtidos com uma fêmea, cuja prole é seguramente partenogenética, pois foi isolada quando no estágio de deutoninfa, emergiu em 27/X/1945, começou a ser alimen-

GRÁFICO I

PROGÊNIE DE UMA ♀ PARTENOGENÉTICA



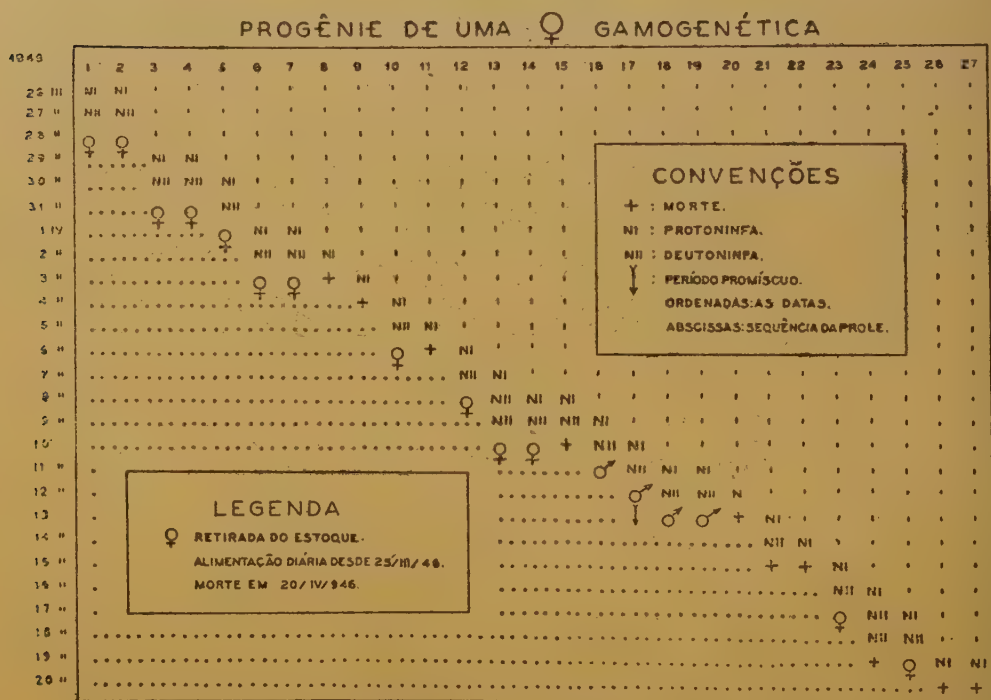
tada, diariamente, a partir de 6/XI e morreu em 3/XII/1945. Viveu portanto 33 dias, os 6 primeiros dos quais em jejum, havendo começado a ovipostura somente a partir do dia seguinte ao em que começou a ser alimentada; durou este período 22 dias, pois nos 4 últimos de sua vida não poz ovos. Sua prole foi isolada sucessivamente, no estágio de deutoninfa, e constou de 18 machos, nenhuma fêmea e 8 mortos imaturos.

A primeira conclusão que se impõe é a da existência indubitável de uma partenogênese arrenótoca facultativa. A segunda é a diferença de ritmo entre as duas metades do período genético dessa fêmea: ao passo que seus 13 primeiros descendentes apareceram muito regularmente, com a frequência de 1 por dia, os 13 restantes

o fizeram na proporção de 1,4 por dia. Além disso, na primeira metade do período a mortalidade foi nula, enquanto na segunda atingiu a 53,8 por cento, o que dificilmente poderá ser atribuído a mero acaso.

Na ocasião hesitamos entre considerar as irregularidades da segunda metade do período genético como sinais de decrepitude ou manifestações de um esgotamento provocado pela manutenção de um ritmo excessivamente acelerado na alimentação do bicho. Pensou-se também na eventualidade de tais irregularidades correrem por conta do prolongamento da experiência numa câmara única, que, apesar de limpa cuidadosamente todos os dias, poderia ir ficando contaminada com possíveis restos de ovos de moscas em decomposição, muito embora não se notassem indícios que apoiassem essa hipótese. As outras experiências demonstram que a primeira hipótese é a mais conveniente.

GRÁFICO II



Outro tipo de irregularidade é exibido pelo descendente n.º 24, que teve seu ciclo vital excessivamente alongado, relativamente aos outros irmãos. Outras experiências vieram demonstrar que se trata

de manifestação de decrepitude materna, que se associa frequentemente a elevação da mortalidade, como se os últimos descendentes fossem grandemente prejudicados por algo que retarda ou mesmo chega a inibir seu desenvolvimento.

O Gráfico II mostra o comportamento da prole de uma fêmea retirada da criação estoque, isolada e alimentada diariamente a partir de 25/III/1946. Começou dando uma sequência de 11 fêmeas e 4 ninfas que morreram, o que indica ter sido fertilizada e haver já dobrado o primeiro período da ovipostura. Vem depois uma sequência de 4 machos e 3 ninfas mortas, o que torna lícito admitir que cessaram os efeitos da fertilização anterior e que são, portanto, partenogéticos. Entretanto, como acidentalmente o macho n.º 17 deixasse de ser isolado em tempo, havendo permanecido na câmara materna até o dia seguinte, esboça-se nova sequência, apenas de 2 fêmeas e 3 ninfas, estas mortas, e que se encerrou com a morte da fêmea-mãe em 21/IV/1946.

No Gráfico III acham-se reunidos os dados relativos a duas fêmeas foréticas. Ambas começaram a ser alimentadas em 26/VI/1947. Na fêmea A, o primeiro descendente, macho, atingiu o estágio adulto em 1º/VII, e foi deixado na câmara materna até 7/VII, quando morreu. Os outros descendentes foram isolados sucessivamente. Surgiu apenas mais um macho, cuja eclosão ocorreu no mesmo dia da emergência do primeiro, e depois uma sequência de 5 fêmeas e 1 ninfa, que morreu. Sua alimentação foi interrompida em 12/VII, para ser retomada em 28/VII, isto é, dezesseis dias depois, durante os quais não poz ovos. Somente quatro dias mais tarde eclodia nova fêmea, que foi seguida apenas de outras duas. Como se vê, um repouso de 20 dias na ovipostura não adiou as manifestações de decrepitude, mas também não prejudicou os resultados da fertilização inicial.

Da fêmea B o primeiro descendente, macho, atingiu o estágio adulto em 1º/VII, permanecendo na câmara materna até 6/VII, quando morreu. Surgem 5 fêmeas, com 1 macho intercalado, e 1 ninfa, que morreu. Interrompida a alimentação em 12/VII, para ser reiniciada em 28/VII, 20 dias depois, recomeçou a postura após um repouso de 23 dias, ainda com uma fêmea, seguida de 4 machos e uma ninfa, que morreu. Confirmaram-se os resultados obtidos

com a fêmea A, sendo de notar que nesta a fertilização deu para produzir 8 fêmeas, enquanto na fêmea B apenas 6, com a intercalação de um macho ocasional.

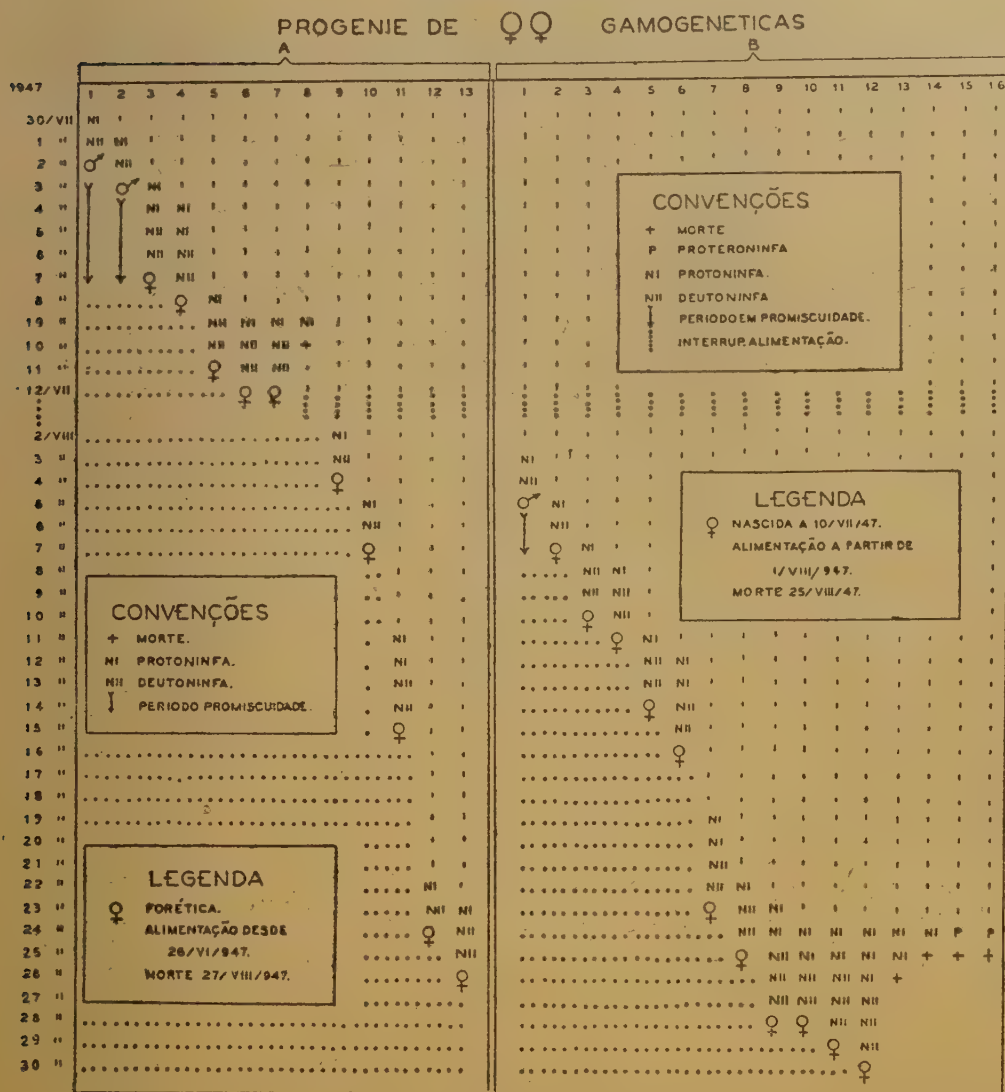
GRÁFICO III



O Gráfico IV reúne os resultados de outras duas experiências típicas, em que se procurou verificar a influência do jejum na longevidade e na prole das fêmeas. A fêmea A é forética, e começou a ser alimentada regularmente em 26/VI/1947, verificando-se a 30/VI a primeira ninfa, que se transformou em macho a 2/VII, seguido por outro no dia seguinte; permaneceram ambos na mesma câmara até 7/VII, quando foram separados. Desse dia em diante apareceram 5 fêmeas, até 12/VII, quando a alimentação foi interrompida, até 28/VII, ou seja, por 16 dias. Apareceram mais 5 fêmeas, entre 4 e 26/VIII. Neste último dia a fêmea-mãe apresentou-se apática, aparecendo morta no dia seguinte. Portanto, apesar

do repouso de 16 dias intercalados no período de ovipostura, não foram adiadas as manifestações de decrepitude, nem se modificaram as características de fêmea gamogenética.

GRÁFICO IV



A fêmea B, nascida no laboratório a 10/VII/1947, permaneceu sem alimentação até 1º/VIII, isto é, durante 21 dias. Deu então 1 macho, de ovo posto no dia seguinte ao em que começou a se alimentar, e que permaneceu na mesma câmara até 7/VIII, quando foi isolado. Apareceu daí por diante uma sequência de 10 fêmeas, até que em 24/VIII a mãe manifestou sinais de mal-estar, morrendo

no dia seguinte. Portanto um retardo no início da ovipostura nenhuma influência exerceu na longevidade da fêmea. Observamos novamente a tendência à perturbação final no ritmo da ovipostura, acompanhada de mortalidade elevada e de um alongamento excessivo do ciclo vital dos últimos descendentes. De fato, no dia anterior ao da morte da fêmea-mãe, apareceram na câmara mais 5 protoninfas e 2 proteroninfas, das quais morreram no dia seguinte as duas proteroninfas e duas das protoninfas.

EXPERIÊNCIAS RELATIVAS A FORESE

Já referimos que, quase sempre, as fêmeas foréticas, quando isoladas da prole, dão descendência partenogenética, constituída exclusivamente por machos.

De fato, em 22 fêmeas que foram encontradas viajando naturalmente em moscas, 18 (= 82%) revelaram-se partenogenéticas, 1 (= 4,5%) gamogenética, ao passo que 3 (= 13,2%) não deram descendentes. Ignoramos se as 3 últimas eram estereis ou decrépitas. Se as deixarmos de lado, teremos então, viajando na mosca doméstica, cerca de 94,5% de fêmeas partenogenéticas.

Afim de verificarmos experimentalmente o fenómeno, foram colocadas algumas pupas de mosca doméstica na câmara em que se mantinha a criação-estoque, já descrita anteriormente (1946).

Emergiram 3 moscas em 29/VIII/1947, que foram retiradas, separadamente, logo depois de estarem prontas para voar. A primeira trazia 11, a segunda 15, e a terceira 10 fêmeas de *M. muscaedomesticae*. Esses números excepcionalmente elevados de fêmeas foréticas são explicáveis pela grande população de ácaros em espaço relativamente pequeno e pelo confinamento das moscas, que impedia completamente qualquer defesa eficaz contra tais passageiros. Ficaram assim grandemente excedidas as quantidades habituais de fêmeas que viajam, assinalada no trabalho anterior (1945), de tal maneira que as moscas chegavam a tornar-se incapacitadas para o vôo.

A terceira mosca foi deixada durante 6 horas numa atmosfera saturada de humidade, constituída por um pequeno cristalizador de vidro, emborcado sobre papel de filtro humidecido. Durante esse tempo as fêmeas foréticas permaneceram presas firmemente ao veículo, não se havendo destacado nenhuma.

A segunda mosca foi deixada nas mesmas condições da anterior, por cerca de 1 hora, com resultado semelhante. O papel de filtro foi então impregnado com uma solução de amoníaco a 1 por cento. Os ácaros começaram logo a se mostrar agitados, e cerca de meia dúzia deles foi abandonando sucessivamente o veículo, pondo-se a passear por dentro do recipiente. Podiam encontrar de novo a mosca, mas não mostravam tendência para se grudarem novamente. Depois de cerca de 1 hora projetou-se o calor de uma resistência elétrica sobre o recipiente, e então todos os restantes abandonaram a mosca.

A primeira mosca, depois de mantida também em ambiente húmido, foi levada para lugar seco; sobre o papel de filtro do fundo deixou-se cair uma gota de amoníaco concentrado. Os ácaros abandonaram logo o veículo, espalhando-se em todas as direções, muito ativamente.

Não foi investigado o estímulo que leva as fêmeas à prática da forese, conquanto se tenha a impressão de que dependa mais de circunstâncias mecânicas, o que resta a demonstrar. Pensávamos que o dessecamento da esterqueira desempenhasse papel importante no fenómeno, porém as experiências referidas acima, em câmaras bem húmidas, parecem afastar tal hipótese.

Quanto ao estímulo para os ácaros abandonarem a mosca, verificamos que não está relacionado com o ambiente físico, quando traduzido em termos de humidade e temperatura. Fomos levados a experimentar a influência do amoníaco por ser substância preponderante nas esterqueiras. Observamos que, em quantidades elevadas, excita muito os ácaros, levando-os a abandonar a mosca em quaisquer condições. Diluido, os resultados que se obtêm apresentam caracter mais parcial; estes podem entretanto tornar-se mais elevados e atingir mesmo à totalidade em ambientes húmidos e aquecidos.

Das fêmeas que viajavam experimentalmente foram isoladas 23 em câmaras individuais, para verificação da natureza da prole. Dessas, 13 (= 56,5%) mostraram-se partenogenéticas, 6 (= 26,0%) gamogenéticas, enquanto 4 (= 17,4%) não deixaram descendentes. Se desprezarmos estas últimas, teremos cerca de 68,5% de fêmeas partenogenéticas viajando nas condições experimentais.

Verificamos, mais uma vez, que as condições estabelecidas para a experiência de forese, não somente alteraram para mais os resultados, no que diz respeito ao número de ácaros que viajam em cada mosca, como aumentaram também, substancialmente, a proporção das fêmeas foréticas gamogenéticas, em sensível desacordo com os dados colhidos nas condições naturais.

DISCUSSÃO

Limitaremos a discussão apenas aos casos de partenogênese bem comprovada em ácaros. O exemplo mais antigo que se conhece é o de BECK (1866 *a b*), relativo à partenogênese telitoca de *Cheyletus eruditus* (SCHRANK) [= "*Cheyletus des pelleteries*" *apud* OUDEMANS (1908)], da coorte *Eleutherengona* (*Trombidiformes: Prostigmata*). Vamos encontrar novamente partenogênese telitoca, segundo ARAGÃO (1912), em *Amblyomma rotundatum* C. L. KOCH [= *A. agamum* ARAGÃO *apud* ROBINSON (1926)], da coorte *Ixodides* (*Parasitiformes*), o que foi confirmado por BRUMPT (1924). Estes exemplos estão ainda a espera de confirmação citológica.

São dois casos que não se relacionam diretamente com o nosso, em virtude da telitoquia que exibem.

Mais interessantes são os exemplos de partenogênese arrenótoca. Destes, vamos encontrar na coorte *Tarsonemini* (*Trombidiformes*) exemplos em *Pediculopsis graminum* (REUTER) [= *P. dianthophilus* (WALCOTT) *apud* STEWART & HODGKISS (1908)], onde foi negada por REUTER (1909), que assinalou escassez de machos, havendo COOPER (1937, 1939) demonstrado citologicamente uma partenogênese arrenótoca haploide; e em *Pediculoides ventricosus* (NEWPORT), onde a partenogênese arrenótoca foi evidenciada geneticamente por HERFS (1926) e MONTEROSSO (1934), havendo PAETAU (1934, 1936) demonstrado citologicamente a haploidia dos machos.

No gênero *Tetranychus* DUFOUR, da coorte *Eleutherengona* (*Trombidiformes: Prostigmata*) encontramos mais dois exemplos: um em *Tetranychus bimaculatus* HARVEY [= *T. gloveri* BANKS = *T. desertorum* BANKS *apud* MCGREGOR (1920)] cujos primeiros indícios já vêm dos fins do século passado, quando MORGAN (1897) verificou que os ovos de fêmeas não fertilizadas desenvolvem-se normalmente,

e PERKINS (1897), PARKER (1913), EWING (1914) e SCHRADER (1923) demonstraram que os ovos partenogenéticos dão origem sistematicamente a machos. BANKS (1900) observou que a espécie é representada no início da primavera apenas por fêmeas, cujos descendentes são sempre machos, e portanto de origem partenogenética. Tais fatos foram confirmados e bem coordenados por MCGREGOR & McDONOUGH (1917). SCHRADER (1923) estudou as manifestações citológicas do fenômeno, demonstrando a haploidia dos machos dessa espécie. O outro exemplo é em *Tetranychus telarius* L., cuja partenogênese arrenótoca foi evidenciada geneticamente por ZACHER (1921).

O caso de *Macrocheles muscaedomesticae* superpõe-se bem exatamente aos de *Tetranychus bimaculatus*, *T. telarius* e *Liponyssus bacoti*. Tem em comum com eles a oscilação numérica na quantidade de machos, que são muito escassos na progênie das fêmeas gamogenéticas, mas vão constituir a totalidade da descendência das fêmeas partenogenéticas. Isso explica a discordância dos vários autores que se têm ocupado com a proporção dos sexos nas espécies de *Tetranychus*.

Em relação ao que se sabe de *T. bimaculatus* o paralelismo acentua-se mais ainda, pois as fêmeas migradoras desta espécie costumam ser partenogenéticas, tanto quanto as fêmeas foréticas de *M. muscaedomesticae*, de tal modo que, em ambas as espécies, os novos territórios serão ocupados geralmente por fêmeas, cujos primeiros descendentes serão necessariamente machos, até que, fertilizadas por estes, iniciem uma progênie constituída quase que exclusivamente por fêmeas. De então por diante, o número de machos ficará na dependência, ou da não fertilização ocasional das fêmeas, ou do esgotamento do estoque de espermatozoides armazenados em suas espermatecas, ou ainda de eventuais falhas na fecundação de óvulos.

A partenogênese em *Pediculoides* e *Pediculopsis* tem sua significação biológica diminuída, não só pelo fato da fertilização ocorrer antes do nascimento, como também porque as fêmeas não fertilizadas encontram grande dificuldade em desenvolver a fisogastria do opistosoma, o que torna sua prole geralmente diminuta, ou mesmo impossível. Além disso, o nascimento desta acarreta a morte do organismo materno.

Embora os machos de *M. muscaedomesticae* sejam seguramente partenogenéticos, nada é possível adiantar sobre se permanecem

haploides ou se são devolvidos ao estado diploide, enquanto não se fizer a análise citológica do fenómeno, conquanto já se conheçam os precedentes de haploidia em *Tetranychus bimaculatus*, *Pediculoides ventricoides* e *Pediculopsis graminum*.

Quanto ao estímulo para as fêmeas de *M. muscaedomesticae* abandonarem a mosca domestica, parece que os de natureza fisica desempenham papel desdenhável, o que não acontece com os agentes quimicos, representados em nossas experiências pelo amoníaco.

PHORESY AND ARRHENOTOCOUS PARTHENOGENESIS IN MACROCHELES MUSCAEDOMESTICAE (SCOPOLI) (ACARINA: MACROCHELIDAE) AND THEIR ECOLOGICAL BEARINGS

A b s t r a c t

The house-fly traveller macrochelid mite was bred by the technic already published by the authors (1946), slightly modified now to permit to segregate the offsprings from their mothers in individual breeding cells.

The results of the breeding experiments led us to the following conclusions:

1. *The unimpregnated females lay eggs that always develop parthenogenetically into adult males.*

2. *The impregnated females lay eggs that often produce adult females gamogenetically; meanwhile, one or another occasional male may appear, but at the end of the oviposition period, if the life span of the female is long enough, some males may be entailed also.*

3. *An impregnated female, if left together with the occasional males of its offspring, remains gamogenetic till the end of the oviposition period, by repeated matings.*

4. *A parthenogenetic female, when left together with the males of its offspring, may become gamogenetic.*

5. *The number of females in the offspring of the gamogenetic females is relatively low (6-10), probably on account of the small number of the spermatozoa.*

6. *The parthenogenetic and gamogenetic females have comparable life spans — from 30 to 50 days.*

7. *The males seem do not feed; they live 2-20 days.*

8. *The male-producing eggs (parthenogenetic) seem to develop faster (3-4 days) than the female-producing ones (4-5 days).*

9. The oviposition depends largely on the availability of food; it begins after the female has fed, is discontinued if the feeding ceases, but is regained when the food becomes available again.

10. The oviposition period begins very regularly, with one, or occasionally two eggs a day, but becomes irregular by its end, with delayed development and higher death-rate of the immature offspring.

11. The number of female mites caught from flies naturally infested averages 1 to 3, exceptionally more, and 82% of them are parthenogenetic.

12. The number of female mites caught from experimentally infested flies is larger — 10 to 15, and 56.5% of them are parthenogenetic.

13. The vapours of ammonia caused the phoretic females to leave the flies. It is suggested that this may be the possible mechanism of the natural phaenomenon occurring at the manure piles.

14. The phoresy on the fly chiefly by the unimpregnated females, associated to its facultative arrhenotocous parthenogenesis, may perform a highly important role in the invasion of new territories by the species.

BIBLIOGRAFIA

- ANDRÉ, M. — 1935 — La parthénogénèse chez les acariens. *Annales des Sciences Naturelles*, 10e. Série, 18 (Vol. du Centenaire) (2): 103-118.
- ARAGÃO, H. DE B. — 1912 — Contribuição para a sistemática e biologia dos Ixodidas. Partenogênese em carrapatos. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 4 (1): 96-119 + ests. XI-XII.
- BANKS, N. — 1900 — The red spiders of the United States, *U. S. Department of Agriculture, Division of Entomology, Tech. Ser.*, N.º 8.
- BECK, R. — 1866 a — A short description of an *Acarus* and its agamic reproduction. *Transactions of the Microscopical Society*, London, n. s., 14: 30-34.
- BECK, R. — 1866 b — *Idem*. *The Zoologist*, Londres, 2th. Ser., 1: 236-240.
- BERLESE, A. — 1881 — Il polimorfismo e la partenogenesi di alcuni Acari (Gamasiidi) (Sunto). *Bulletino della Società Entomologica Italiana*, 13, (3/4): 290-292.
- BERLESE, A. — 1882 a — Il polimorfismo e la partenogenesi di alcuni Acari (Gamasiidi). *Ibidem*, 14, (1): 88-141 + est. I.
- BERLESE, A. — 1882 b — Polymorphisme et Parthénogénèse de quelques Acariens (Gamasiidés). *Archives Italiennes de Biologie*, 2: 108-129 + 1 est.
- BERLESE, A. — 1889 — Acari, Myriapoda & (Pseudo)Scorpiones hucusque in Italia reperta, 52: (1), (2), (3), (4), (5), (6).

- BERLESE, A. — 1918 — Centuria quarta di Acari nuovi. *Redia*, 13: 115-192.
- BERLESE, A. — 1925 — Gli Insetti, 2.^o vol, Società Editrice Libreria, Milão, IX + 992.
- BRUMPT, E. — 1924 — Particularités évolutives de l'*Amblyomma agammum*. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 2 (2): 113-120.
- CANESTRINI, G. — 1881 — Osservazioni intorno al genere *Gamasus*, *Atti del Reale Istituto Veneto di Scienze, Lettere ed Arti*, 7, serie V. *Apud* G. & R. Canestrini (1882).
- CANESTRINI, G. & R. CANESTRINI — 1882 — I Gamasi Italiani. *Atti della Società Veneto-Trentina di Scienze Naturali*, 8: 3-82.
- COOPER, K. W. — 1937 — Reproduction behaviour and haploid parthenogenesis in the grass mite, *Pediculopsis graminum* (Reut.) (Acarina. Tarsonemidae). *Proceedings National Academy of Sciences of the United States of America*, 23 (2): 41-44.
- COOPER, K. W. — 1939 — The nuclear citology if the grass mite, *Pediculopsis graminum* (Reut.), with special reference to karyomerokinesis. *Chromosoma*, Berlin, 1 (1): 51-103.
- EWING, H. E. — 1914 — The common red spider or spider mite. *Oregon Agricultural Experiment Station, Bulletin N.º 92*.
- FOÁ, A. — 1900 — Esistono il polimorfismo e la partenogenesi nei Gamasidi? *Buletino della Società Entomologica Italiana*, 32: 121-149.
- FREUND, L. — 1910 — Zur Kenntniss der Ohrmilbe des Rindes. *Zoologische Jahrbuecher, Abt. f. Syst., Geogr. u. Biol. der Tiere*, 29 (3/4): 313-331.
- HERFS, A. — 1926 — Oekologische Untersuchungen an *Pediculoides ventricosus* (Newp.) Berl. *Zoologica*, Stuttgart, 28 (2): 1-68 + 1 est.
- KRAMER, P. — 1876 — Zur Naturgeschichte einiger Gattungen aus der Familie der Gamasiden. *Archiv fuer Naturgeschichte*, 42, (1): 46-105.
- MCGREGOR, E. A. — 1920 — The red spiders of America and a few European species likely to be introduced. *Proceedings of the United States National Museum*, 56 (N.º 2303): 641-679 + ests. 76-81.
- MCGREGOR, E. A. & F. L. McDONOUGH — 1917 — The red spider on Cotton. *U. S. Department of Agriculture, Bulletin N.º 416*, Washington, D. C., 72 pp.
- MICHAEL, A. D. — 1881 — Observations on the life-histories of *Gamasinae*, with a view to assist in more exact classification. *Journal of the Linnean Society of London, Zoology*, 15: 297-309 + ests. 22-23.
- MONTEROSSO, B. — 1934 — Osservazioni e ricerche sperimentali sulla biologia di *Pediculoides ventricosus* (Newp.) Berl. *Rivista di Biologia*, Firenze, 16 (1): 80-127 + 12 ests.
- MORGAN, H. A. — 1897 — Entomological Report La. Agricultural Experiment Station, *Bulletin N.º 48*.
- OHMORI, N. — 1936 — Studies on the tropical rat mite. Second Report — On the sex ratio and parthenogenesis. *The Zoological Magazine, Formosa*, 48, (8/10): 627-637.
- OUDEMANS, A. C. — 1908 — Notes on Acari. XVth Series (*Parasitidae*. *Acaridae*) — On parthenogenesis or agamic reproduction in Acari. *Tijdschrift voor Entomologie*, 51: 71-87.
- PARKER, W. B. — 1913 — The red spiders on hops. *U. S. Department of Agriculture, Bureau of Entomology, Bulletin N.º 167*.

- PÄTAU, K. — 1934 — Ein neuer Fall haploider Parthenogenese. *Die Naturwissenschaften*, 22 (38): 648-649.
- PÄTAU, K. — 1936 — Cytologische Untersuchungen an der haploid-parthenogenetischen Milbe *Pediculoides ventricosus* Newp. Berl. *Zoologische Jahrbuecher, Abt. fuer Allgemeine Zoologie und Physiologie der Tiere*, 56 (3): 277-322.
- PEREIRA, C. & M. P. de Castro — 1945 — Contribuição para o conhecimento da espécie tipo de *Macrocheles* Latr. (Acarina): *M. muscaedomesticae* (Scopoli, 1772) emend. *Arq. Inst. Biológico*, São Paulo, 16: 153-186.
- PEREIRA, C. & M. P. de Castro — 1946 — Cultura de ácaros e de alguns outros aracnídeos predadores. *Livro de Homenagem a Romualdo Ferreira d'Almeida*, editado pela Sociedade Brasileira de Entomologia, São Paulo: 286-287.
- PERKINS, G. H. — 1897 — The red spider (*Tetranychus telarius*). 10th. Annual Report of the Veterinary and Agricultural Experiment Station.
- REUTER, E. — 1909 — Zur Morphologie und Ontogenie der Acariden mit besonderer Beruecksichtigung von *Pediculopsis graminum* (E. Reut.). *Acta Soc. Scient. Fennicae*, 36, (4): 288 pp. + 6 ests.
- ROBINSON, L. E. — 1926 — The Genus *Amblyomma*. In Nuttall, G. H. F., C. Warburton & L. E. Robinson — *Ticks: A Monograph of the Ixodoidea*, Cambridge University Press, Londres, Parte IV, XII + 302 + 7 ests.
- SCHRADER, F. — 1923 — Haploidie bei einer Spinnmilbe. *Archiv fuer mikroskopische Anatomie*, 97, (4): 610-622 + est. XXVI.
- STEWART, F. C. & H. E. Hodgkiss — 1908 — The *Sporotrichium* bud-rot of Carnations and the silver top of June grass. *N. Y. Agricultural Experiment Station, Technical Bulletin* N.º 7.
- TRAVASSOS FILHO, L. & C. PEREIRA — 1947 — Comportamento da humidade em recipientes de barro poroso para a criação de artrópodos. *Papeis Avulsos do Departamento de Zoologia*, São Paulo, 8: 123-126 + 3 ests.
- TROUESSART, E. L. — 1902 — Existence de la parthénogénèse chez le *Gamasus auris* Leidy, de l'oreille du Boeuf domestique. *Comptes Rendues Hebdomadaires des Séances et Mémoires de la Société de Biologie*, 54: 806-809.
- VITZTHUM, H. G. — 1930 — Acarologische Beobachtungen (14. Reihe). *Zoologische Jahrbuecher, Abt. fuer Systematik, Geographie und Biologie der Tiere*, 59, (2/3): 281-350.
- ZACHER, F. — 1921 — Untersuchungen ueber Spinnmilben. *Mitteilungen der Kaiserlichen biologischen Anstalt fuer Land-u. Forstwirtschaft*, N.º 12.

O DIAGNÓSTICO DA ESPIROQUETOSE AVIÁRIA EM ANIMAIS MORTOS

POR

P. Nobrega e A. S. Reis

Do Instituto Biológico de S. Paulo

A espiroquetose aviária é uma doença relativamente freqüente em São Paulo, pois ocorre em cerca de 5% dos casos enviados ao Instituto Biológico para fins de diagnóstico.

O período de incubação nos casos espontâneos da moléstia varia de 4-6 dias, mas o da infecção experimental é em geral de 2 dias. A duração depende aliás do número de carrapatos infestados que sugam a ave, ou da dose inoculada. Os espiroquetas se multiplicam então ativamente no sangue durante uns três dias, ao fim dos quais sobrevivem uma crise, com brusca destruição dos parasitas. A morte, quando se verifica, é geralmente ulterior à crise, talvez conseqüente a ela, e pode atingir 60-90% das aves atacadas.

À medida que se aproxima a crise, os espiroquetas se aglomeram em grandes massas e um dia depois de sua ocorrência pode-se ainda encontrar um ou outro espiroqueta no sangue.

As mortes conseqüentes à espiroquetose ocorrem em geral depois da crise, num momento portanto em que há poucos ou não há mais espiroquetas na circulação.

Nos casos de morte com exame negativo para espiroqueta, o diagnóstico teria de basear-se nos achados anatomo-patológicos ou na história clínica da doença e sua associação com carrapatos transmissores. Embora, entretanto, as alterações patológicas, principalmente do baço e fígado, constituam fortes indícios da doença, elas não são de tal modo características e constantes que permitam estabelecer sem dúvida alguma o diagnóstico, que seria assim apenas de natureza presuntiva.

Julgamos por isso que seria interessante experimentar um método que permitisse estabelecer com segurança o diagnóstico nos casos suspeitos, que são numerosos como se pode ver da tabela se-

guinte, a qual inclui 10.000 exames realizados no Instituto Biológico de fevereiro de 1930 a setembro de 1947.

Esta tabela mostra que é grande o número de aves mortas em que ainda se pode revelar o espiroqueta: com efeito, considerando-se englobadamente todas as aves mortas suspeitas ou com exame positivo para espiroqueta, vemos que o diagnóstico é possível em 66% das aves mortas que vêm ao laboratório.

TABELA 1

Incidência da espiroquetose em 10.000 exames realizados
no Instituto Biológico
(Fev. de 1930 a set. de 1947)

GALINHAS	MEIO DIAGNÓSTICO		N.º de aves	%
	Espiroqueta	Alter. patol.		
Vivas	+	+	297	2,97
Mortas	+	+	298	2,98
Mortas	—	+	147	1,47

A necessidade de assegurar um diagnóstico para os casos restantes foi que nos levou a estudar a possibilidade de utilizar os anticorpos protetores existentes no baço de aves mortas de espiroquetose, no estabelecimento eventual de um novo processo para diagnóstico da moléstia. Com efeito, LEVADITI demonstrou em 1904, em experiências realizadas em coelhos, que os anticorpos contra a espiroquetose são produzidos principalmente no baço, medula óssea e gânglios. Daí a idéia da pesquisa de anticorpos no baço de aves mortas suspeitas de espiroquetose, como meio de diagnóstico para êstes casos com exame negativo em campo escuro, para espiroqueta.

MATERIAL E MÉTODOS DE TRABALHO

220 galinhas são inoculadas intramuscularmente com uma diluição a 1:10 em água fisiológica de sangue rico em espiroquetas. No terceiro dia após a inoculação as aves são examinadas, constatando-se a presença de espiroquetas no sangue periférico de todos os animais inoculados.

Todos os animais mortos nos dias subseqüentes são autopsiados, procedendo-se então ao exame do sangue do coração em campo escuro, para pesquisa do espiroqueta. Para os fins dêste trabalho sómente foram aproveitados os baços de galinhas cujo exame foi negativo para espiroqueta.

As galinhas sobreviventes são sacrificadas, alguns dias depois da crise, isto é, num momento em que não mais apresentam espiroqueta na circulação periférica. Os baços dessas galinhas são também examinados quanto à presença de anticorpos protetores contra a espiroquetose.

Para determinação da presença de anticorpos no baço foi adotada a seguinte técnica: todo o baço é pesado (o peso médio dos baços de aves com espiroquetose, nesta experiência, foi de 4,7 gr, com variações de 3 a 15 gr), fazendo-se uma suspensão a 30% em água fisiológica; em seguida adiciona-se 10% de sôro fresco de coelho e 0,25 cm³ de sangue diluído a 1:10, rico em espiroquetas, para cada centímetro cúbico da mistura suspensão de baço + sôro de coelho; o material permanece 1½h em contáto na estufa à temperatura de 37°C., sendo então inoculado intramuscularmente em franguinho de 1-2 meses de idade.

Uma série paralela de franguinhos é inoculada simplesmente com as suspensões de baço, e alguns animais são injetados intramuscularmente com a suspensão de espiroqueta em água fisiológica.

O sangue de todos os animais da experiência e dos controles é examinado em campo escuro no quarto dia da infecção, isto é, num momento em que todos os testemunhas, inoculados apenas com sangue virulento, já apresentam grande número de espiroquetas na circulação.

RESULTADOS

A inoculação de espiroquetas em galinhas adultas deu o seguinte resultado:

a) Número de aves inoculadas	220	
b) Número de aves mortas de espiroquetose .	175	(79,5%)
c) Número de aves sobreviventes	45	(20,5%)

A pesquisa direta em campo escuro de espiroquetas nas 175 aves mortas deu o resultado seguinte:

- a) Número de aves mortas de espiroquetose .. 175
- b) Número de aves com exame positivo 150 (85,7%)
- c) Número de aves com exame negativo 25 (14,3%)

Das galinhas mortas em consequência de espiroquetose, mas com exame negativo para espiroqueta, restaram portanto apenas 25 animais para a nossa experiência de pesquisa de anticorpos no baço; a êsse número acrescentamos entretanto 25 animais sobreviventes e que foram sacrificados 8 dias após a infecção, num momento em que o exame do sangue para espiroquetas já se tinha tornado completamente negativo.

O resultado da pesquisa de anticorpos protetores no baço dêsses 50 animais, de acôrdo com a técnica já referida, está resumida na tabela n.º 2:

TABELA 2

Pesquisa de anticorpos protetores no baço de galinhas mortas ou restabelecidas de espiroquetose

M A T E R I A L	N.º	Vol. da suspensão	Comple-mento	Susp. de sangue com espiroqueta	Espiroqueta nos pintos inoculados	
					—	+
Baços de galinhas mortas de espiroquetose.	25	1 cm ³	10%	0,25 cm ³	21	4
Baços de galinhas sobreviventes.	25	1 cm ³	10%	0,25 cm ³	22	3
Baços de galinhas mortas de espiroquetose.	25	1 cm ³	—	—	25	0
Baços de galinhas sobreviventes.	25	1 cm ³	—	—	25	0
Suspensão de espiroquetas.	5	1 cm ³	—	0,25 cm ³	0	5

DISCUSSÃO

O exame realizado em 10.000 aves enviadas ao Instituto Biológico para fins de diagnóstico revelou 595 casos de espiroquetose, ou seja uma incidência de 5,95%. Dêste total 297 eram animais vivos e 298 mortos, o que demonstra, ao contrário do que se admitia, a possibilidade de se encontrar o espiroqueta, e portanto de estabelecer um diagnóstico positivo, em grande número de animais mortos.

Em 147 casos de animais mortos e que apresentavam à autópsia lesões anátomo-patológicas suspeitas de espiroquetose, não encontramos o espiroqueta no sangue do coração examinado diretamente em campo escuro. As alterações observadas são as seguintes: baço muito hipertrofiado e com alteração da coloração, que se apresenta irregular, cheia de manchas difusas branquicentas; fígado aumentado e com manchas irregulares de necrose; pericardite fibrinosa na maioria dos casos.

Foi para êstes casos, suspeitos mas com exame negativo para espiroqueta, que procuramos estabelecer um meio seguro de diagnóstico, baseado na pesquisa de anticorpos espiroquetocidas no baço dos animais mortos de espiroquetose.

Os resultados expressos na tabela 2 demonstram que o método empregado neste trabalho permitiu revelar seguramente a presença de anticorpos protetores em 43 de 50 baços (86%) de galinhas mortas ou restabelecidas de espiroquetose, o que representa sem dúvida um progresso acentuado no diagnóstico bacteriológico dos casos suspeitos de espiroquetose.

THE DIAGNOSIS OF AVIAN SPIROCHAETOSIS IN DEAD BIRDS

A b s t r a c t

Only in 85% of the chickens dead from experimental spirochaetosis it is possible to find spirochaetes in the heart blood by means of the microscopical examination (dark field illumination).

At the autopsy table one is sometimes confronted with certain cases in which the spleen and liver lesions are similar to those usually found in spirochaetosis, the blood examination being nevertheless negative as to the presence of spirochaetes. The lesions, though common in cases of spirochaetosis cannot be held as specific for that disease.

In the present paper the authors present a diagnostic method which can be applied in cases such as the ones above mentioned.

The method is based on the detection of protecting antibodies in the spleen of the dead animals.

The use of this method, which is described in detail in the portuguese text, enabled the authors to establish the diagnosis of spirochaetosis in 86% of the dead birds in which the finding of lesions commoly observed in that disease was not paralleled by the demonstration of spirochaetes in the heart blood.

BIBLIOGRAFIA

- 1) — LEVADITI, C. — 1904 — Les Anticorps contre les spirilles de la septicémie des poules. *An. Inst. Pasteur*, 18: 511-526.

ESTUDOS SÔBRE A "GOMOSE DE PHYTOPHTHORA" DOS CITRUS - I - SUSCETIBILIDADE DE DIVERSAS ESPÉCIES CÍTRICAS A ALGUMAS ESPÉCIES DE "PHYTOPHTHORA"

POR

Victoria Rossetti

Do Instituto Biológico de S. Paulo

Com 2 figuras no texto e estampas 5-7

INTRODUÇÃO

Com o aparecimento da "tristeza" dos *Citrus*, cuja ocorrência se tem manifestado de maneira alarmante nos laranjais não só do Estado de São Paulo, como de outros Estados do Brasil, nêstes últimos anos, tornou-se necessário recorrer a novos porta-enxêrtos, outros que o de laranja azêda (*Citrus aurantium* LINN.), até há poucos anos considerado muito bom para as nossas condições, mas que agora se apresenta como indesejável, por formar, quando enxertado com as variedades comerciais de laranja doce, pomelo e tangerina, combinações suscetíveis à "tristeza" (BITANCOURT 1940, MOREIRA 1942); entretanto a laranja azêda tem, sôbre outras espécies, a vantagem de ser resistente à Gomose de *Phytophthora* ou "podridão do pé", doença que ataca muitas das laranjas doces, como também quase todos os limões. Por êsse motivo, procuramos verificar quais as espécies e variedades de *Citrus* que apresentam maior resistência a essa gomose, e que, portanto, oferecem maior garantia ao citricultor, quando utilizadas como porta-enxêrto.

Apresentamos, nêste trabalho, os resultados dos estudos realizados, como contribuição para a escolha de porta-enxêrtos resistentes à "podridão do pé", na produção de mudas de laranjeiras sadias. A parte experimental foi levada a efeito na Estação Experimental de Citricultura de Limeira, do Instituto Agrônômico de Campinas, onde foi posta à nossa disposição uma coleção de espécies, variedades e progênies não autofecundadas, de *Citrus*, lá existentes. (1)

(1) Consignamos aqui os nossos agradecimentos ao Dr. Silvio Moreira, Chefe da Sub-Divisão de Horticultura do Instituto Agrônômico, que nos franqueou os viveiros para experiências, e ao Dr. A. J. Rodrigues Filho, na ocasião chefe da Estação Experimental de Citricultura de Limeira, pelo auxílio que nos prestou, facilitando a realização dêsses trabalhos.

A “podridão do pé”, dos *Citrus*, é uma doença causada por diversas espécies de fungos do gênero *Phytophthora* de BARY, e por isso também chamada “gomose de *Phytophthora*”, para distingui-la das outras gomoses causadas por agentes ou causas diferentes. Esses fungos atacam geralmente a laranjeira na região do colo, desenvolvendo-se na zona cambial, principalmente nos tecidos da casca, mas também numa profundidade de um a dois milímetros nos do lenho superficial, tanto em direção às raízes como à parte aérea. Seu ataque acarreta a morte das raízes e, conseqüentemente, da planta, porque destrói o floema, onde se localizam os vasos condutores da seiva elaborada. Os sinais da doença são o escurecimento da casca e exsudação de uma goma de cor pardo-escura, que escorre pelo tronco. É bastante conhecida dos citricultores, e ataca os *Citrus* em todas as partes do mundo onde são cultivados (TUCKER 1933, FAWCETT 1936). Entre as diversas espécies do gênero *Phytophthora* já assinaladas sobre os *Citrus*, foram encontradas nos nossos laranjais as seguintes: *Phytophthora citrophthora* (SM. e SM.) LEONIAN, *P. parasitica* DASTUR e *P. palmivora* BUTLER (BITAN-COURT 1936).

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo comparativo das diversas variedades de laranjeiras, do ponto de vista de sua resistência à “gomose de *Phytophthora*”, consistiu em inocular os agentes causais da doença em certo número de plantas da mesma idade, que se acham exatamente nas mesmas condições de ambiente. As inoculações foram feitas em troncos de plantas sadias, de pé franco, de 4 anos de idade, e as lesões medidas depois de certo período; o método usado foi o de incisão com furador de rólhas, semelhante ao descrito por KLOTZ e FAWCETT (1930), com as modificações introduzidas por WRIGHT (1933).

Consiste em desinfetar com álcool a superfície da região do tronco que se vai inocular; praticar uma incisão com furador de rólhas, retirando um disco de casca de cerca de 4 milímetros de diâmetro, expondo assim a zona cambial da planta; introduzir no orifício assim aberto um disco, de igual diâmetro, de cultura pura do inóculo, semeado em placa de Petri; recolocar o mesmo disco de casca anteriormente retirado, no orifício, e proteger a inoculação por meio de esparadrapo, para evitar dissecação.

CLAPPER (1944) descreveu a adaptação de um furador de rô-lhas, destinada a realizar inoculações de organismos patogênicos em troncos de árvores. Empregamos, em nossos trabalhos, outro tipo de furador (estampa 5, fig. A), cuja vantagem consiste em reduzir o número de operações, o que resulta numa economia de tempo, quando se trata de um número muito grande de inoculações. Nêsse instrumento, o êmbolo *a* (estampa 5, fig. B) é uma pequena peça mais ou menos de 2 centímetros de comprimento, que se move na extremidade inferior do cilindro perfurador *b*. Entre a extremidade superior do êmbolo e a parte superior do cilindro, que é maciça, está localizada uma pequena mola *c*, que força o êmbolo para fóra. Este é movido por meio da peça externa *d*, a ele ligada por um parafuso *e*, cujos movimentos estão limitados pela janela *f* praticada no cilindro. O conjunto se prende ao cabo *g*, adaptável ao aparelho por meio do parafuso *h*, de modo que o mesmo cabo pode ser utilizado com cilindros de diversos diâmetros.

Basta fazer um pequeno movimento de suspensão e torsão da peça *d* para prender o êmbolo na parte superior da janela, quando se quer remover a casca da árvore, e um movimento inverso para soltá-lo, quando se quer expulsar o disco de casca que está na extremidade do cilindro, o que pode ser facilmente feito com os dedos polegar e indicador da mesma mão que segura o aparelho. (2)

Procuramos realizar êste trabalho nos meses chuvosos do verão, de Outubro a Fevereiro, em que, normalmente, a doença se apresenta com maior frequência e intensidade.

Na primeira experiência, iniciada em Outubro de 1942, trabalhamos com 980 plantas de 100 variedades e progênies, das seguintes espécies: laranja doce (*Citrus sinensis* (LINN.) OSBECK), pomelo (*C. paradisi* MACF.), toranja (*C. grandis* (LINN.) OSB.), tangerina (*C. reticulata* BLANCO), calamondin (*C. mitis* BLANCO), laranja azêda (*C. aurantium* LINN.), limão (*C. limon* (LINN.) BURM.), lima doce (*C. aurantifolia* SWINGLE), (3) e outras, inoculando 6 espécies de *Phytophthora*: *P. citrophthora* (SM. & SM.) LEONIAN, *P. parasitica* DASTUR, *P. palmivora* BUTLER, *P. cactorum* (L. & C.) SCHROET., *P. cinnamomi* RANDS, e *P. boehmeriae* SAW. (4), de culturas puras, existentes na Secção de Fitopatologia do Instituto Biológico, isoladas em 1937 por FAWCETT e BITANCOURT (1940).

(2) Agradecemos ao Sr. L. Paz o auxílio que nos prestou na confecção do modelo desse instrumento, que foi executado pelo Sr. A. Fattibene.

(3) A classificação das espécies citricas adotada foi a de W. T. Swingle (Webber e Batchelor 1943).

(4) A classificação das espécies de *Phytophthora* adotada foi a de C. M. Tucker (1931).

Na segunda experiência, iniciada a 10 de Janeiro de 1943, trabalhamos com 140 plantas de 28 variedades de laranja doce (*C. sinensis*) da mesma coleção, escolhidas entre as que se mostraram mais resistentes na primeira experiência.

Fizemos um total de 560 inoculações, somente de *P. citrophthora* reisolado das lesões obtidas em Novembro, por ter sido esta a espécie mais patogênica na experiência anterior. A cultura de *P. parasitica*, com que trabalhamos, não produziu lesões satisfatórias, apesar de ser essa espécie, frequentemente, a causadora da doença nos nossos laranjais.

Na terceira série de inoculações, feita em Janeiro de 1943, vimos o estudo de 29 variedades de limas doces, limões e outras, trabalhando com 3 plantas de cada variedade e inoculando *P. citrophthora* 4 vezes em cada planta.

Depois de certo tempo, que pode variar segundo forem as condições de ambiente, chuva e temperatura, mais ou menos favoráveis ao desenvolvimento da doença, procede-se à medição das lesões, retirando a casca da zona atacada e medindo a lesão no lenho, em comprimento e largura média. Preferimos fazer a medição no lenho porque, quando a lesão está muito avançada, as cascas são removidas com dificuldade, e quase sempre se rompem, o que torna pouco exata a leitura na casca. Quando as condições são favoráveis, um período de incubação de 15 dias é suficiente para fazer a leitura dos resultados. (Estampa 6)

As inoculações foram sempre feitas nas posições Norte, Sul, Leste e Oeste, para evitar a possível influência de diferentes exposições, o que poderia dar causa a erro. Além disso, fizemos em cada árvore uma incisão testemunha, isto é, sem introduzir o inóculo. Em nenhum caso as testemunhas apresentaram, no momento das leituras, qualquer descoloração que indicasse o desenvolvimento de algum microorganismo patogênico da casca de *Citrus*.

A idade das culturas inoculadas variou de 6 a 10 dias.

RESULTADOS

1 a . E x p e r i ê n c i a — Inoculamos 6 espécies de *Phytophthora* de cultura pura, a 3 alturas do tronco das árvores: no

colo, a 15 centímetros e a 30 cm acima do colo, nas 4 posições: Norte, Sul, Leste e Oeste, e uma testemunha em cada árvore.

Esta primeira série de inoculações foi realizada no mês de Outubro de 1942, durante o qual a precipitação pluviométrica na Estação Experimental de Limeira foi muito pequena, não sendo as condições de ambiente aparentemente favoráveis ao desenvolvimento da doença (ver Tabela 6). Apesar disso algumas inoculações chegaram a produzir lesões consideráveis, após um período de incubação bastante prolongado. Depois de 35 dias da inoculação, as plantas de algumas variedades começaram a mostrar os sintomas da doença, pela exsudação de goma ou pelo escurecimento da casca, quase sempre visível mediante uma raspagem superficial, delineando os contornos da lesão. Nessa época procedemos à medição das lesões em comprimento e largura média, fazendo primeiramente o descascamento do tronco na zona atacada e medindo-as no lenho.

Nessa primeira experiência a maior porcentagem de infecção verificada foi devida à espécie *P. citrophthora*, que produziu lesões em 40 das 100 variedades experimentadas, e, em segundo lugar, à *P. cactorum*, enquanto as outras espécies do fungo não se desenvolveram.

Apresentamos, na Tabela 1, os resultados da primeira leitura. Na segunda coluna damos o número de plantas que foram inoculadas para cada variedade, e na terceira, o número de plantas que apresentaram lesões causadas por *P. citrophthora* 35 dias após a inoculação. Na quarta coluna damos a média dos produtos obtidos multiplicando o comprimento das lesões pela largura média; esta média é calculada dividindo-se a soma dos produtos, para cada variedade, pelo número de plantas inoculadas.

Outras plantas, que nessa época não apresentavam qualquer sintoma da doença, só foram examinadas 95 dias depois da inoculação. Na Tabela 2 apresentamos os resultados desta leitura, referentes às lesões produzidas por *P. citrophthora*, e, na Tabela 3, os referentes às produzidas por *P. cactorum*.

Deixamos de mencionar as variedades que, embora tivessem sido inoculadas nessa experiência, não mostraram infecção, porque elas foram reinoculadas nas experiências posteriores. Nestas, também foram incluídas as variedades que se mostraram mais resis-

tentes e as que, apesar de suscetíveis, apresentavam interêsse no estudo comparativo com as outras.

2 a . E x p e r i ê n c i a — Trabalhamos com 28 variedades de laranja doce (*C. sinensis*), inoculando o fungo *P. citrophthora*

TABELA 1

Tamanho médio das lesões produzidas por *Phytophthora citrophthora* em 35 dias, em diversas espécies e variedades de *Citrus*, expresso em média dos produtos do comprimento pela largura média. (*)

ESPÉCIES, VARIEDADES E PROGENIES	N.º de plantas inoculadas	N.º de plantas com lesões	Média das lesões em cm²
<i>Citrus aurantifolia</i>			
limão Rio Claro (114)	5	5	89,66
<i>C. sinensis</i>			
laranja Açoriana (5)	10	10	26,48
<i>C. limon</i>			
limão Ponderosa (113)	4	3	17,40
<i>C. reticulata</i>			
limão Cravo (93)	5	5	2,55
limão Cravo (94)	4	4	1,92
<i>C. aurantifolia</i>			
limão Inglês (106)	5	5	1,45

(*) — Os números que aparecem ao lado dos nomes das variedades referem-se à numeração dada pela Estação Experimental de Limeira (S. P.)

em 5 plantas de cada variedade, nas 4 posições (Norte, Sul, Leste e Oeste), fazendo um total de 20 inoculações e 5 testemunhas para cada variedade.

Esta série, realizada no mês de Janeiro de 1943, teve melhor êxito que a anterior, por ter sido feita em época mais oportuna, na qual as condições de temperatura e umidade foram mais favoráveis ao desenvolvimento da doença, com plantas mais uniformes e em bom estado de vegetação, com brotação intensa. Os resultados permitiram estabelecer uma escala de suscetibilidade que podemos considerar muito satisfatória, visto que ela se manteve praticamente inalterada nos diversos estudos efetuados em continuação, em colaboração com A. A. BITANCOURT, a quem agradecemos pela orientação dispensada na realização desse trabalho.

TABELA 2

Tamanho médio das lesões produzidas por *Phytophthora citrophthora* em 95 dias, em diversas espécies e variedades de *Citrus*, expresso em média dos produtos do comprimento pela largura média.

ESPÉCIES, VARIEDADES E PROGENIES	N.º de plantas inoculadas	N.º de plantas com lesões	Média das lesões em cm ²
<i>C. reticulata</i> X <i>C. sinensis</i>			
tangor Tangerona (6)	5	1	93,60
<i>C. sinensis</i>			
laranja Abacaxi (1)	20	3	45,73
laranja S. Sebastião (21)	20	8	92,46
laranja Caipira (42)	20	6	35,18
<i>C. limon</i>			
limão Gigante (108)	10	1	18,70
<i>C. sinensis</i>			
laranja Caipira (41)	10	4	14,08
" Caipira B4 (35)	20	8	13,93
" Lue Gim Gong (29)	11	3	10,08
" Caipira (44)	20	7	6,18
" Caipira (38)	20	8	5,71
" Seleta amarela (18)	20	6	5,53
<i>C. paradisi</i>			
pomelo Foster (45)	20	4	2,94
<i>C. sinensis</i>			
laranja Caipira B (40)	10	3	2,78
" Cleopatra (15)	8	2	2,07
" Caipira C2 (37)	20	6	1,77
" Caip. Faz. S. Francisco (39)	10	4	1,65
" Campista (30)	5	1	1,55
" Mangaratiba (28)	10	2	1,36
" Caipira C4 (36)	20	5	1,29
" Sanguínea (8)	20	2	1,26
" Itaborai (31)	10	3	1,21
" Sabará (34)	9	2	1,20
" D. A. C. (16)	20	3	1,14
" Coronel (4)	20	1	0,91
" Pera (20)	10	3	0,70
" Coco (32)	5	1	0,69
<i>C. maxima</i>			
toranja Melancia (49)	5	1	0,54
<i>C. sinensis</i>			
laranja Valencia Late (27)	5	1	0,48
" Mó (3)	5	1	0,34
" Pineapple (26)	20	2	0,33
<i>C. maxima</i>			
toranja Doce (53)	5	1	0,32
<i>C. sinensis</i>			
laranja Caipira Ortolan 9 (43)	20	1	0,26
" Natal (19)	20	1	0,16
<i>C. maxima</i>			
toranja Indochina (52)	5	1	0,15

TABELA 3

Tamanho médio das lesões produzidas por *Phytophthora cactorum* em 95 dias, em diversas variedades de *Citrus*, expresso em média dos produtos do comprimento pela largura média.

VARIETADES	N.º de plantas inoculadas	N.º de plantas com lesões	Média das lesões em cm ²
<i>Citrus sinensis</i>			
laranja Caipira Ortolan (42)	10	4	10,28
" São Sebastião (21)	10	1	1,44
" Caipira Ortolan (44)	10	2	0,97
" Pineapple (26)	10	1	0,42
" Caipira C4 (36)	10	1	0,14

A leitura foi feita 15 dias depois de inoculadas as plantas; observamos a infecção máxima na variedade laranja Coronel, e mínima na laranja Mandarin.

Apresentamos, na Tabela 4, os dados experimentais completos dos resultados obtidos nessa experiência. Os comprimentos e larguras das lesões são dados em centímetros. Os resultados foram tratados estatisticamente pelo método da análise de "variance". Para êsse fim trabalhamos com os produtos do comprimento pela largura das lesões, o que representa a sua área aproximada; segundo KLOTZ e FAWCETT (1930), as áreas assim calculadas tem um valor de 25 a 50 por cento maior que as verdadeiras, devido à forma irregular das lesões.

A análise foi feita usando-se os logaritmos dos dados experimentais acrescidos de 1, $(x + 1)$, pois o crescimento das lesões é exponencial, (COCHRAN 1938) pelo menos nos primeiros dias. Houve casos em que algumas plantas não puderam ser inoculadas nas 4 posições; por êsse motivo os dados que faltavam foram calculados pela fórmula de ALLEN e WISHART modificada por YATES (SNEDECOR 1946) no caso de ter sido omitido um só dado, e pela fórmula de W. D. BATEN (1939) no caso de serem dois os casos omissos. O teste de F mostrou alta significância da "variance" entre variedades quando comparada com a "variance" entre plantas da mesma variedade, e alta significância da "variance" destas quando comparada com a da interação inoculações x plantas da mesma variedade.

Foi feita a comparação de tôdas as variedades entre si, aplicando o teste "t" de significância das diferenças entre médias, ob-

TABELA 4

Medição em centímetros das lesões produzidas por *Phytophthora citrophthora* em 15 dias, em 28 variedades de *Citrus sinensis*.

VARIETADES	INOCULAÇÕES									
	NORTE		SUL		LESTE		OESTE		Larg.	Compr.
	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.		
laranja Coronel (4)	19,5	2,0	25,0	3,2	25,0	3,2	25,0	3,2	3,5	25,0
	25,0	2,5	26,0	2,3	19,0	2,7	14,5	2,7	1,7	14,5
	18,0	2,0	22,5	3,2	25,0	2,5	23,6	2,5	3,0	23,6
	25,0	2,8	32,5	2,7	20,0	2,0	32,0	2,0	4,0	32,0
	18,8	3,0	17,0	2,4	25,0	3,0	25,0	3,0	2,8	25,0
laranja Abacaxi (1)	17,0	2,7	26,0	4,0	19,5	3,0	16,7	3,0	1,8	16,7
	20,5	2,0	19,0	1,7	26,0	2,7	27,7	2,7	3,0	27,7
	24,5	2,5	23,0	2,8	22,5	1,7	27,3	1,7	1,5	27,3
	21,7	3,4	25,0	3,5	25,0	2,8	23,0	2,8	3,0	23,0
	17,8	3,0	23,8	4,2	22,2	2,2	17,5	2,2	2,2	17,5
laranja Campista (30)	23,3	2,9	21,0	2,3	22,2	3,0	16,0	3,0	2,0	16,0
	19,0	2,2	16,5	5,0	19,3	3,7	20,5	3,7	3,6	20,5
	20,3	2,2	21,5	3,0	19,8	2,0	17,7	2,0	2,7	17,7
	19,5	3,4	25,0	3,3	20,4	3,5	21,0	3,5	2,5	21,0
	24,0	4,5	29,0	4,7	13,0	2,0	13,0	2,0	2,0	13,0
laranja Mó (3)	16,8	2,2	22,7	2,4	24,0	2,5	15,8	2,5	2,1	15,8
	23,0	3,5	—	—(*)	17,5	2,0	23,0	2,0	3,5	23,0
	19,7	2,8	26,0	4,0	27,0	2,2	25,0	2,2	3,0	25,0
	11,0	6,0	24,0	3,0	18,7	3,7	21,5	3,7	3,2	21,5
		1,5	3,2	1,5	13,3	1,8	12,5	1,8	2,5	12,5
laranja São Sebastião (21)	11,5	1,8	12,8	2,0	17,0	1,8	21,7	1,8	3,0	21,7
	17,5	3,2	10,4	3,0	12,5	1,8	15,0	1,8	2,0	15,0
	20,8	3,0	15,6	2,5	24,0	3,0	25,0	3,0	2,3	25,0
	22,5	2,8	22,5	2,7	18,8	2,5	12,0	2,5	1,6	12,0
	12,5	2,0	13,7	1,7	21,7	1,7	24,0	1,7	3,2	24,0

(Continua)

TABELA 4 (continuação)

VARIEDADES	I N O C U L A Ç Õ E S							
	NORTE		SUL		LESTE		OESTE	
	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.
laranja Sanguinea (8)	14,0 22,0 16,0 23,5 27,0	1,8 2,6 1,6 2,4 2,0	27,0 23,7 10,5 24,2 19,0	3,2 3,7 1,7 2,5 1,8	2,8 11,6 14,6 11,7 20,5	2,3 1,8 2,7 1,5 2,5	23,0 11,2 16,8 18,0 21,5	3,0 1,3 2,6 2,0 1,8
laranja Ouro (7)	— 21,7 25,0 22,2 10,0	—(**) 2,3 2,0 2,6 1,2	28,8 23,0 28,5 23,0 2,5	3,0 3,0 2,2 2,6 1,6	— 20,0 22,0 19,8 27,0	—(**) 1,7 2,0 3,0 2,0	27,6 22,0 20,6 15,6 23,0	2,3 0,8 1,8 2,0 1,4
laranja Seleta Amarela (18)	17,0 19,8 18,8 12,4 17,3	2,0 2,0 2,8 1,7 2,3	24,5 12,3 19,5 11,8 22,0	1,7 1,8 2,3 2,0 2,2	10,8 21,2 17,2 20,4 12,5	1,6 2,2 2,1 2,4 2,0	12,0 18,8 12,0 20,2 12,2	2,5 2,1 1,8 2,0 2,0
laranja Caipira - Fazenda S. Francisco (39)	22,0 11,5 16,5 12,0 20,2	4,2 1,4 2,7 2,0 2,0	18,8 18,7 22,8 19,5 21,4	1,5 1,3 2,2 2,0 1,3	22,8 11,0 20,0 18,7 12,0	1,0 2,2 1,5 2,5 1,0	14,0 23,5 9,0 23,6 20,0	2,0 2,2 1,8 2,0 1,5
laranja Cleopatra (15)	11,5 16,5	1,4 2,0 2,0	23,0 13,5 17,2 9,0 16,6	3,0 1,8 1,2 1,5	1,2 15,0 11,4 10,5	2,5 2,0 1,8 1,6	16,4 23,4 22,5 9,0	2,7 2,3 2,0 2,5 1,2

(Continua)

TABELA 4 (continuação)

VARIEDADES	INOCULAÇÕES							
	NORTE		SUL		LESTE		OESTE	
	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.
laranja Hamlim (10)	18,8 16,0 13,0 20,8 23,3	1,2 1,2 1,3 1,6 1,8	22,8 12,0 13,0 19,5 14,5	2,0 1,3 2,0 1,8 1,3	16,5 23,0 32,0 8,7 20,0	2,0 2,0 2,0 1,3 2,0	14,0 18,0 14,7 18,5 22,3	1,3 2,0 1,7 1,5 2,2
laranja Pearson Brown (14)	6,3 16,8 23,5 20,0 7,5	0,7 1,8 1,8 1,7 1,0	15,5 5,0 21,7 25,0 22,7	1,5 1,0 1,8 1,6 2,3	2,5 20,7 13,5 4,0 7,5	1,8 1,8 1,5 1,0 1,0	25,0 22,0 26,0 23,0 26,0	2,3 1,7 2,3 1,9 2,0
laranja Cipó (11)	3,0 11,5 15,2 21,0 21,0	0,8 1,0 1,3 1,8 2,5	1,8 22,5 22,0 14,0 23,0	0,7 2,0 1,7 1,2 2,0	19,5 15,3 15,0 16,2 25,5	1,7 1,5 1,5 1,4 2,2	26,0 22,8 24,5 26,0 13,5	1,8 1,6 1,5 1,8 1,5
laranja Seleta Branca (33)	23,0 7,0 25,0 20,5 9,8	2,2 0,8 2,2 2,5 0,8	24,0 19,0 15,2 22,3 12,2	4,7 2,5 1,2 2,0 0,2	17,0 4,5 19,2 24,7 25,0	2,3 0,6 2,0 2,2 2,2	5,2 11,5 9,2 5,2 19,5	1,0 1,2 1,3 1,0 2,2
laranja Rosa (12)	10,8 19,8 20,0 18,5 15,0	1,5 2,0 2,0 2,0 1,3	18,3 4,0 21,6 5,5 20,3	1,5 1,0 1,9 1,2 2,0	19,8 20,7 6,4 10,5 20,0	2,0 1,7 1,0 1,4 2,2	10,0 11,5 7,3 21,0 18,7	1,0 1,2 1,2 2,0 2,7

(Continua)

TABELA 4 (continuação)

VARIEDADES	I N O C U L A Ç Õ E S							
	NORTE		SUL		LESTE		OESTE	
	Compr.	Latg.	Compr.	Latg.	Compr.	Latg.	Compr.	Latg.
laranja Calpita Ort. (43)	14,5	1,8	15,2	1,2	11,8	1,5	16,7	1,6
	4,6	0,8	6,5	0,8	8,8	1,0	21,8	2,0
	9,2	1,0	10,0	1,2	9,0	1,2	22,8	2,8
	15,0	1,7	17,5	1,6	16,0	1,8	18,8	2,0
	22,0	2,0	11,0	1,5	13,5	1,8	20,0	2,0
laranja Sabará (34)	12,0	1,3	14,0	1,4	21,3	2,0	11,0	1,2
	15,6	1,6	0,0	0,0	12,0	1,8	12,2	1,5
	13,0	1,8	10,7	1,5	16,0	1,2	18,3	2,0
	12,0	1,0	12,0	1,8	17,3	2,0	15,7	2,3
	18,5	2,0	12,3	1,3	9,7	1,3	14,4	2,0
laranja Pincapple (26)	22,5	2,0	14,5	1,4	12,2	1,3	6,7	0,7
	8,5	0,9	17,5	2,0	22,3	1,5	19,8	1,9
	16,5	2,2	8,7	1,2	7,8	0,9	5,0	0,6
	23,0	2,1	12,6	1,0	11,6	1,0	20,8	1,8
	21,0	2,0	17,5	2,0	6,2	0,8	21,3	1,5
laranja Lisa Paulista (17)	9,4	1,0	13,8	1,2	15,0	1,3	—(*)	—(*)
	14,7	1,2	9,5	1,4	12,5	1,5	5,0	1,1
	12,8	1,1	17,5	1,4	12,5	1,0	1,0	14,5
	18,0	2,4	12,5	1,6	7,0	1,0	12,2	1,3
	13,4	1,2	16,1	1,8	13,3	1,4	13,4	1,3

(Continua)

TABELA 4 (continuação)

VARIEDADES	INOCULAÇÕES							
	NORTE		SUL		LESTE		OESTE	
	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.
laranja Mangaratiba (28)	20,0	1,8	17,5	1,4	5,5	0,7	6,0	0,8
	10,8	1,6	8,5	1,2	4,3	1,2	16,4	2,0
	20,0	2,1	22,3	2,0	6,0	1,0	13,2	1,5
	14,3	1,0	12,0	1,0	11,7	1,5	20,7	2,0
	16,6	1,7	18,0	1,7	6,5	0,8	6,3	0,8
laranja Itaboraí (31)	18,5	1,8	16,0	1,8	9,5	1,2	14,7	2,0
	9,0	0,8	10,3	1,2	10,8	1,5	17,2	1,2
	15,2	1,2	7,8	1,0	7,5	1,0	9,5	1,0
	11,3	1,2	7,6	1,0	9,6	1,0	14,0	1,6
	9,8	1,5	15,2	1,8	9,9	1,0	10,3	1,0
laranja Valência Late (27)	18,3	1,9	18,5	2,2	7,9	0,9	6,3	0,7
	16,3	1,3	13,6	1,0	6,0	0,9	4,0	0,7
	15,0	1,5	15,5	1,5	30,6	1,6	2,0	0,7
	8,0	0,9	19,4	2,2	15,5	1,6	12,0	1,2
	7,5	1,1	12,2	2,0	15,0	1,8	11,0	1,0
laranja Setubal (2)	5,8	0,8	5,7	0,8	2,0	0,8	4,6	0,8
	11,0	1,5	15,6	1,2	7,0	1,0	6,9	1,5
	13,5	1,6	21,0	2,0	19,0	1,5	18,5	1,6
	22,8	2,0	24,5	2,5	18,0	1,7	15,0	1,7
	5,8	1,0	7,5	1,0	17,0	2,0	4,7	1,5
laranja Barão (13)	15,0	1,5	20,5	1,6	3,3	1,3	11,4	1,4
	7,8	0,7	3,3	1,1	16,0	2,0	13,4	1,5
	4,7	1,0	13,2	1,4	13,8	1,3	6,2	1,2
	14,5	1,4	14,0	1,6	2,0	0,8	3,0	0,9
	14,0	1,2	5,5	1,0	7,4	1,0	6,2	1,1

(Continua)

TABELA 4 (continuação)

VARIEDADES	I N O C U L A Ç Õ E S							
	NORTE		SUL		LESTE		OESTE	
	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.
laranja Natal (19)	10,0	1,0	6,2	0,8	6,6	1,0	14,5	0,8
	9,8	0,8	7,0	0,9	6,5	1,0	8,2	0,9
	5,4	1,1	4,6	1,1	4,1	1,5	4,0	1,0
	17,4	1,3	11,7	1,0	17,7	1,2	10,0	1,1
	12,0	1,2	9,1	1,1	14,0	1,1	7,3	0,8
laranja Pera (20)	12,0	1,0	5,8	1,0	11,7	1,0	5,0	1,0
	6,9	0,9	16,2	1,3	9,3	1,2	5,3	0,9
	6,3	0,8	9,2	1,0	4,1	0,9	13,3	1,0
	3,5	0,8	3,5	0,8	5,0	0,7	5,7	0,8
	7,3	0,7	5,5	0,4	6,8	0,8	5,2	0,7
laranja Côco (32)	0,0	0,0	4,6	1,0	8,0	1,2	2,0	1,0
	7,2	1,3	0,0	0,0	6,7	1,7	1,6	1,0
	2,2	1,0	10,5	1,8	0,0	0,0	7,0	1,3
	6,0	1,2	4,0	0,7	3,3	1,0	5,0	1,0
	5,3	1,5	7,2	1,2	12,5	1,7	5,5	1,3
laranja Mandarin (24)	6,3	1,0	7,0	1,0	9,5	1,2	4,4	0,7
	4,5	0,9	4,0	0,9	3,8	1,2	5,0	1,1
	6,2	1,1	5,6	1,0	6,2	0,8	8,5	0,8
	4,2	1,0	2,5	0,8	3,6	1,1	1,8	0,9
	4,3	0,8	2,7	0,9	4,2	0,7	3,5	0,8

(*) Os produtos correspondentes foram calculados pela fórmula de ALLEN e WISHART modificada por YATES.

(**) Os produtos correspondentes foram calculados pela fórmula de W. D. BATEN.

tendo-se a escala que apresentamos no gráfico da fig. 1 em ordem decrescente de suscetibilidade à gomose produzida por *P. citrophthora*. As médias indicadas neste gráfico são o antilogaritmo da média dos logaritmos e representam portanto a média geométrica das áreas das lesões.

Nêsse gráfico, a suscetibilidade de cada variedade está representada por um retângulo, cujo lado vertical é o logaritmo da área média das lesões. Os números que aparecem debaixo de cada

TABELA 4a

Análise de "Variance" dos logaritmos dos produtos dos comprimentos pelas larguras da tabela 4, acrescidos de 1.

FONTE DE VARIAÇÃO	Graus de liberdade	Soma dos quadrados dos desvios	"Variance"
Variedades	27	46,232	1,712* (a)
Plantas da mesma variedade	112	6,472	0,058* (b)
Inoculações	3	0,331	0,110
Inoculações × variedades	81	19,696	0,243
Inoculações × Pl. da mesma var. ..	336	11,712	0,035
TOTAL	559	84,443	

$$(a) F = \frac{1,712}{0,058} = 29,51 \text{ altamente significativo.}$$

$$(b) F = \frac{0,058}{0,035} = 1,65 \text{ altamente significativo.}$$

retângulo são as áreas médias em centímetros quadrados, isto é, a média dos produtos do comprimento pela largura das lesões. O espaço compreendido entre a extremidade superior dos retângulos e a linha pontilhada representa o limite abaixo do qual a diferença entre as médias de duas variedades não é significativa e acima do qual ela é significativa para o nível fiducial de 5%; este limite é 0,1510; o espaço compreendido entre a extremidade superior dos retângulos e a linha interrompida representa o limite acima do qual a diferença entre as médias de duas variedades é altamente significativa, para o nível fiducial de 1%, e o seu valor é 0,1800.

Para comparar duas variedades quaisquer, basta, portanto, verificar si a diferença entre o tamanho de seus retângulos representativos é maior do que êsses limites, caso em que será significativa, ou altamente significativa.

GRÁFICO 1

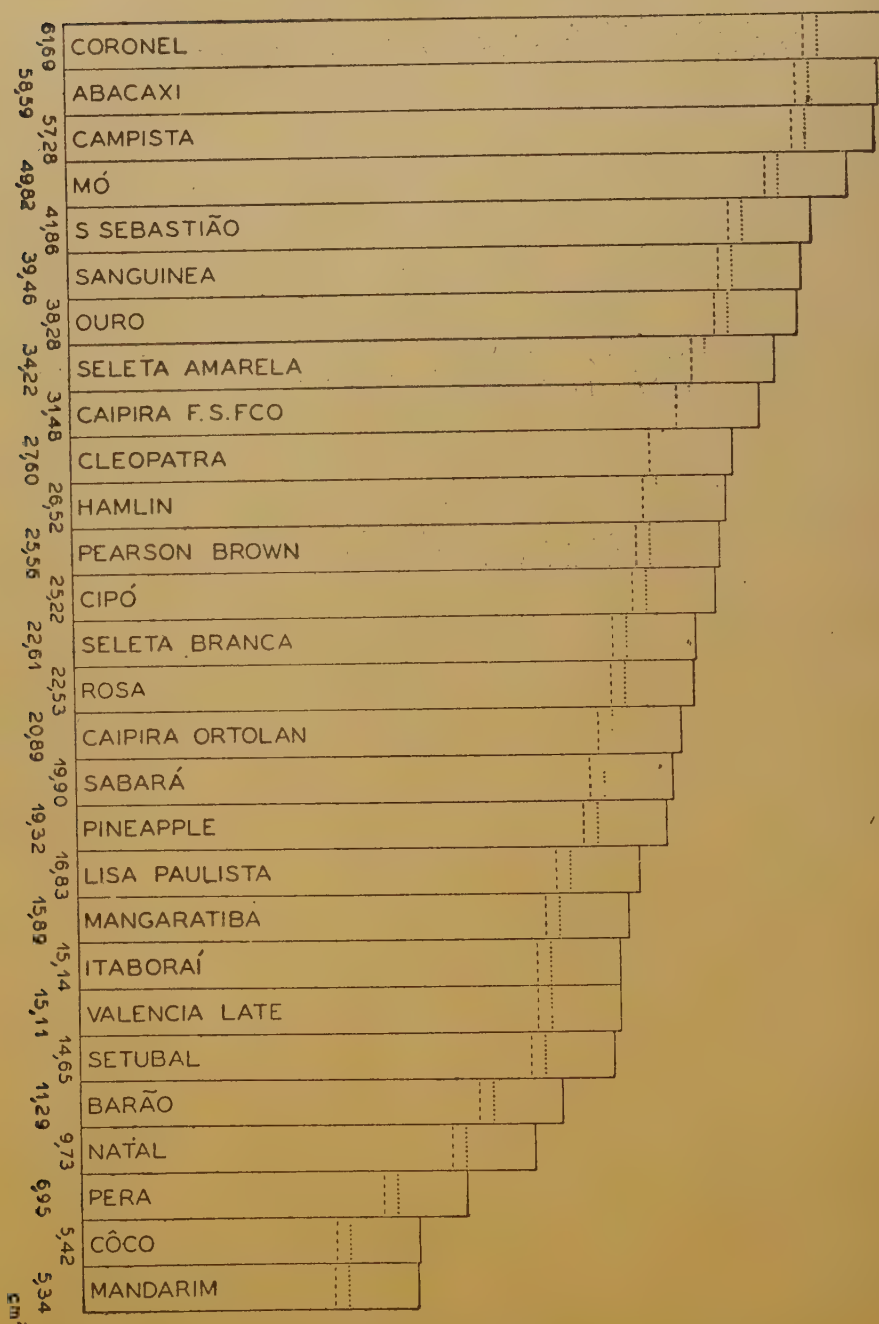


Fig. 1 - Escala de suscetibilidade de 28 variedades de *Citrus sinensis* (L.) OSBECK à gomose produzida por *Phytophthora citrophthora* (SM. e SM.) LEONIAN.

Podemos separar as variedades assim estudadas em três grupos: as 5 primeiras, muito suscetíveis; as 5 últimas, mais resistentes, e as restantes, intermediárias.

Apresentam especial interesse, do ponto de vista da resistência à “podridão do pé”, as variedades Barão, Natal, Pera, Côco e Mandarin, que se destacam das outras como as menos suscetíveis. (Estampa 7)

3 a . E x p e r i ê n c i a — Trabalhamos com 29 variedades de limas doces (*Citrus aurantifolia*) limões (*C. limon*) e outras, inoculando, no mês de Janeiro de 1943, o fungo *P. citrophthora*, em 3 plantas de cada variedade, num total de 12 inoculações para cada uma. A Tabela 5 mostra os resultados obtidos, medindo as lesões, 15 dias após a inoculação das plantas, em comprimento e largura média.

Os dados dessa experiência foram tratados estatisticamente pelo método da análise de “variance”, trabalhando, como se fizera anteriormente, com os logaritmos dos produtos do comprimento pela largura média das lesões, acrescidos de 1. O teste de F mostrou alta significância da “variance” entre variedades, quando comparada com a “variance” entre plantas da mesma variedade, e alta significância da “variance” destas quando comparada com a da interação inoculações x plantas da mesma variedade.

Aplicamos o teste “t” para fazer a comparação das variedades entre si. Os retângulos do gráfico da fig. 2, construídos da mesma maneira que para o anterior, representam a suscetibilidade à gomose causada por *P. citrophthora*, das variedades estudadas nessa experiência. Os limites fiduciais são de 0,3647 para o nível de 5% e 0,4853 para o nível de 1%.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os resultados dessas experiências mostram uma grande variação entre as variedades quanto ao tamanho das lesões. Diferenças consideráveis foram igualmente observadas entre as plantas da mesma variedade. Essa variação deve-se, talvez, em parte, ao fato de trabalharmos com pés francos, provenientes de sementes; além disso, parece existir certa relação entre o estado de vegetação das plantas e o desenvolvimento da lesão; numa planta viçosa e bem brotada, o fungo se desenvolve melhor; a influência deste e de outros fatores no tamanho das lesões está sendo objeto de estu-

TABELA 5

Medição em centímetros das lesões produzidas por *Phyllophthora citrophthora* em 15 dias, em diversas espécies e variedades de *Citrus*.

ESPÉCIES, VARIEDADES E PROGENIES	INOCULAÇÕES							
	NORTE		SUL		LESTE		OESTE	
	Compr.	Latg.	Compr.	Latg.	Compr.	Latg.	Compr.	Latg.
<i>Citrus aurantifolia</i> limão Marfim (105)	10,8	2,0	16,0	2,4	7,8	1,4	4,0	1,2
	13,0	2,5	19,0	2,8	3,7	1,3	3,5	1,0
	3,3	0,8	18,0	3,0	15,0	2,3	7,0	1,2
<i>C. reticulata</i> X <i>C. paradisi</i> Thornton tangelo (116)	10,0	1,5	7,3	1,3	7,1	1,0	2,8	0,8
	15,1	1,3	6,7	1,4	3,1	0,9	11,3	1,5
	17,2	2,0	17,0	2,2	16,7	2,2	15,4	1,7
<i>C. limon</i> limão Eureka (110)	5,7	0,7	6,5	0,8	9,1	1,0	11,2	1,0
	17,2	2,3	10,5	1,5	12,7	1,0	16,0	2,0
	15,0	1,6	10,4	0,8	11,4	1,3	12,2	1,2
<i>C. aurantifolia</i> limão Rio Claro (114)	10,7	1,2	18,3	3,4	20,6	3,4	1,2	0,8
	21,0	4,2	20,0	4,8	20,7	4,3	6,0	0,8
	2,0	0,8	2,0	0,8	1,7	0,8	0,0	0,0
limão Cristal (104)	3,0	0,7	10,0	1,0	2,0	0,6	0,0	0,0
	18,5	2,4	7,8	1,0	18,0	3,0	17,8	2,0
	9,8	2,0	5,0	1,0	6,8	2,5	6,0	0,8

(Continua)

TABELA 5 (continuação)

ESPÉCIES, VARIEDADES E PROGENIES	INOCULAÇÕES								
	NORTE			SUL			LESTE		
	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.	OESTE
<i>Citrus limon</i> limão Doce (112)	2,0	0,8	4,7	0,8	3,3	0,7	0,0	0,0	0,0
	6,1	0,7	8,1	0,8	16,8	2,1	2,1	0,8	0,8
	18,8	1,7	19,0	2,0	11,2	1,0	3,2	0,8	0,8
limão Vila Franca (109)	1,5	0,7	3,4	1,0	9,0	1,2	3,0	0,8	0,8
	17,3	2,5	17,2	1,8	3,7	0,8	1,4	0,6	0,6
	4,0	0,8	2,0	0,8	10,8	1,5	3,1	0,8	0,8
limão Rugoso E. S. A. P. (61)	6,0	0,8	4,3	0,7	6,5	0,7	3,1	0,7	0,7
	5,8	1,0	5,4	0,8	7,6	0,8	2,6	0,9	0,9
	2,2	0,8	18,7	3,0	9,0	1,0	4,6	0,7	0,7
limão Rugoso (58)	6,0	1,0	4,8	0,8	6,0	1,0	5,1	1,0	1,0
	5,3	1,2	5,7	1,0	8,5	1,0	5,0	1,0	1,0
	6,0	0,8	5,0	1,0	4,5	0,8	3,0	0,8	0,8
limão Gigante (108)	3,0	0,7	6,3	0,8	4,7	0,7	6,7	0,8	0,8
	10,4	1,0	10,0	1,0	10,0	1,2	1,5	0,7	0,7
	6,4	1,2	3,6	0,9	4,7	0,7	4,7	0,8	0,8
<i>C. reticulata</i> limão Cravo (94)	5,2	0,8	3,7	1,0	4,6	0,8	4,3	1,0	1,0
	5,5	1,0	3,7	0,9	5,6	0,9	4,7	0,8	0,8
	4,4	0,8	5,5	1,0	3,0	1,2	6,2	1,0	1,0
<i>C. limon</i> limão Rugoso (60)	4,3	0,7	4,7	1,0	7,4	1,1	3,7	1,0	1,0
	5,5	1,0	3,8	1,3	3,5	0,8	4,0	1,2	1,2
	4,8	0,8	5,8	1,0	5,6	0,8	2,2	0,7	0,7

(Continua)

TABELA 5 (continuação)

ESPÉCIES, VARIEDADES E PROGENIES	INOCULAÇÕES							
	NORTE		SUL		LESTE		OESTE	
	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.
<i>Citrus reticulata</i> tangerina do Rio (57)	6,5 4,0 5,1	0,8 0,8 0,8	6,5 4,5 3,8	0,8 0,8 0,8	5,5 4,3 3,8	0,8 0,8 0,7	6,8 4,5 5,8	0,8 0,8 0,8
<i>C. aurantifolia</i> lima da Persia Maronezi (98)	5,2 3,4 6,0	0,8 0,8 0,8	2,2 6,0 3,0	0,8 1,0 0,8	6,6 4,6 3,0	1,0 0,8 0,8	7,0 5,0 5,8	0,8 0,8 1,0
<i>C. limon</i> limão Rugoso (59)	2,5 7,5 5,3	0,8 0,8 1,0	4,4 4,3 6,5	1,0 0,8 0,9	3,5 6,8 5,8	0,7 1,0 1,0	2,0 2,0 5,0	0,8 0,7 0,7
<i>C. aurantifolia</i> lima da Persia (95)	2,8 3,5 4,5	1,3 1,0 0,9	2,8 3,3 4,0	0,8 1,0 1,0	3,0 6,0 3,4	1,0 1,0 0,8	2,5 4,5 3,2	0,8 0,8 0,8
lima da Persia (97)	5,6 1,5 2,6	0,7 0,8 0,8	5,4 5,0 4,0	0,8 0,8 0,8	3,0 2,7 4,4	1,0 0,6 0,8	6,1 4,8 4,3	1,0 0,8 0,9
lima Selvagem (103)	5,9 3,6 3,3	0,8 0,8 0,8	2,8 5,7 3,0	0,9 0,9 0,8	5,7 2,0 5,5	0,8 0,6 0,9	2,2 3,6 1,6	0,8 0,9 0,8
lima da Persia (101)	3,8 6,0 3,7	0,9 1,0 0,7	1,9 3,6 2,2	0,7 1,3 0,7	2,5 4,2 5,3	0,7 1,0 0,8	2,2 3,0 2,6	0,7 1,0 1,0

(Continua)

TABELA 5 (continuação)

ESPÉCIES, VARIEDADES E PROGENIES	INOCULAÇÕES								
	NORTE			SUL			LESTE		
	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.	OESTE
<i>Citrus aurantifolia</i> lima da Persia (100)	3,3	0,7	2,7	0,8	5,5	1,0	2,5	0,8	
	3,0	0,8	3,4	1,0	2,1	0,8	3,0	0,8	
	0,8	0,8	3,0	0,9	2,7	1,0	3,3	0,8	
<i>C. reticulata</i> × <i>C. paradisi</i> tangelo de var. indetermin. (115) ..	3,6	0,8	4,0	0,8	4,3	1,2	3,0	0,8	
	3,5	0,7	3,0	0,8	3,0	0,9	4,0	0,8	
	3,0	0,8	4,0	1,0	1,7	0,6	0,7	0,7	
<i>C. reticulata</i> ? limão Cravo (93)	3,8	0,7	3,0	0,6	2,0	0,6	2,0	0,8	
	3,5	0,7	4,2	0,9	4,0	0,7	3,6	0,8	
	3,7	0,7	3,2	0,8	2,5	0,7	4,5	1,2	
<i>C. limon</i> limão Ponderosa (113)	2,0	0,8	6,5	1,5	11,0	1,0	14,8	1,7	
	1,4	0,7	2,0	0,8	1,5	0,8	0,0	0,0	
	1,3	0,7	1,6	0,8	1,7	1,0	1,2	0,7	
<i>C. aurantifolia</i> lima da Persia (96)	3,0	1,0	2,8	0,8	2,0	0,7	3,0	1,0	
	2,5	1,0	2,0	0,8	3,2	0,9	3,2	0,9	
	2,0	0,8	2,1	0,8	3,2	0,8	2,5	0,8	
<i>C. reticulata</i> ? limão Cravo (92)	4,4	1,0	3,8	0,8	3,8	0,7	3,4	0,8	
	2,3	0,8	3,4	0,8	3,4	1,3	2,5	1,0	
	2,2	0,8	1,5	0,5	1,5	0,6	1,5	0,6	

(Continua)

TABELA 5 (continuação)

ESPÉCIES, VARIEDADES E PROGENIES	INOCULAÇÕES							
	NORTE		SUL		LESTE		OESTE	
	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.	Compr.	Larg.
<i>P. trifoliata</i> × <i>C. sinensis</i> Citrange (117)	3,0	0,7	3,8	0,9	2,0	0,9	0,0	0,0
	3,3	0,8	4,7	0,8	4,0	0,9	2,5	0,7
	3,2	1,0	2,5	0,7	3,4	1,0	0,0	0,0
<i>C. aurantifolia</i> lima americana (102)	3,0	0,8	2,5	0,8	2,2	1,0	2,6	1,0
	1,7	0,6	2,2	0,7	2,2	0,7	2,2	0,7
	1,3	0,8	3,9	0,7	2,6	0,9	2,0	1,0
lima da Persia (99)	2,2	0,8	2,2	0,8	2,1	0,7	1,9	0,7
	0,0	0,0	1,3	0,8	4,9	3,0	2,5	0,8
	2,5	0,8	2,3	0,8	2,1	0,8	2,1	0,8
limão Inglês (105)	2,4	0,8	2,0	0,7	1,5	0,6	2,0	0,6
	1,4	0,7	3,4	0,9	2,4	0,8	2,2	0,6
	2,4	0,7	1,6	0,7	3,0	0,8	2,0	0,6

dos. Para atenuar os seus efeitos, procuramos trabalhar com um número grande de plantas, que fossem representativas da variedade, escolhendo-as entre as mais uniformes quanto ao porte e estado de vegetação.

TABELA 5a

Análise de "Variance" dos logaritmos dos produtos dos comprimentos pelas larguras da tabela 5, acrescidos de 1.

FONTE DE VARIAÇÃO	Graus de liberdade	Soma dos quadrados dos desvios	"Variance"
Variedades	28	16,7918	0,5997* (a)
Plantas da mesma variedade	58	11,5458	0,1991* (b)
Inoculações	3	1,5368	0,5122
Inoculações × variedades	84	6,4149	0,0764
Inoculações × Pl. da mesma var. .	174	3,5714	0,0205
TOTAL	347	39,8607	

$$(a) F = \frac{0,5997}{0,1991} = 3,012 \text{ altamente significativo.}$$

$$(b) F = \frac{0,1991}{0,0205} = 9,712 \text{ altamente significativo.}$$

Durante o decorrer da primeira experiência, em Outubro de 1942, a precipitação pluviométrica na Estação Experimental de Citricultura de Limeira foi muito baixa, com um total de 42,8 mm para os primeiros 35 dias, quando foi feita a primeira leitura, ou seja, uma média de 1,3 mm por dia, e de 430,2 mm, ou seja, uma média de 4,5 mm diários até se fazer a 2a. leitura, no fim de 95 dias. As laranjeiras não apresentavam brotação abundante. Durante a segunda experiência, e nos dias que se seguiram às inoculações, em Janeiro de 1943, as condições de ambiente melhoraram, devido à boa precipitação pluviométrica, que foi de 265,6 mm para 15 dias ou seja, numa média diária de 17,7 mm. Para a 3a. série de inoculações, realizada em Fevereiro de 1943, foi de um total de 123,1 mm para os 15 dias da experiência, isto é, a média diária de 8,2 mm, como mostra a Tabela 6.

Na escala de suscetibilidade estabelecida com as variedades de *Citrus sinensis*, as mais resistentes à *P. citrophthora* foram: laran-

GRÁFICO 2

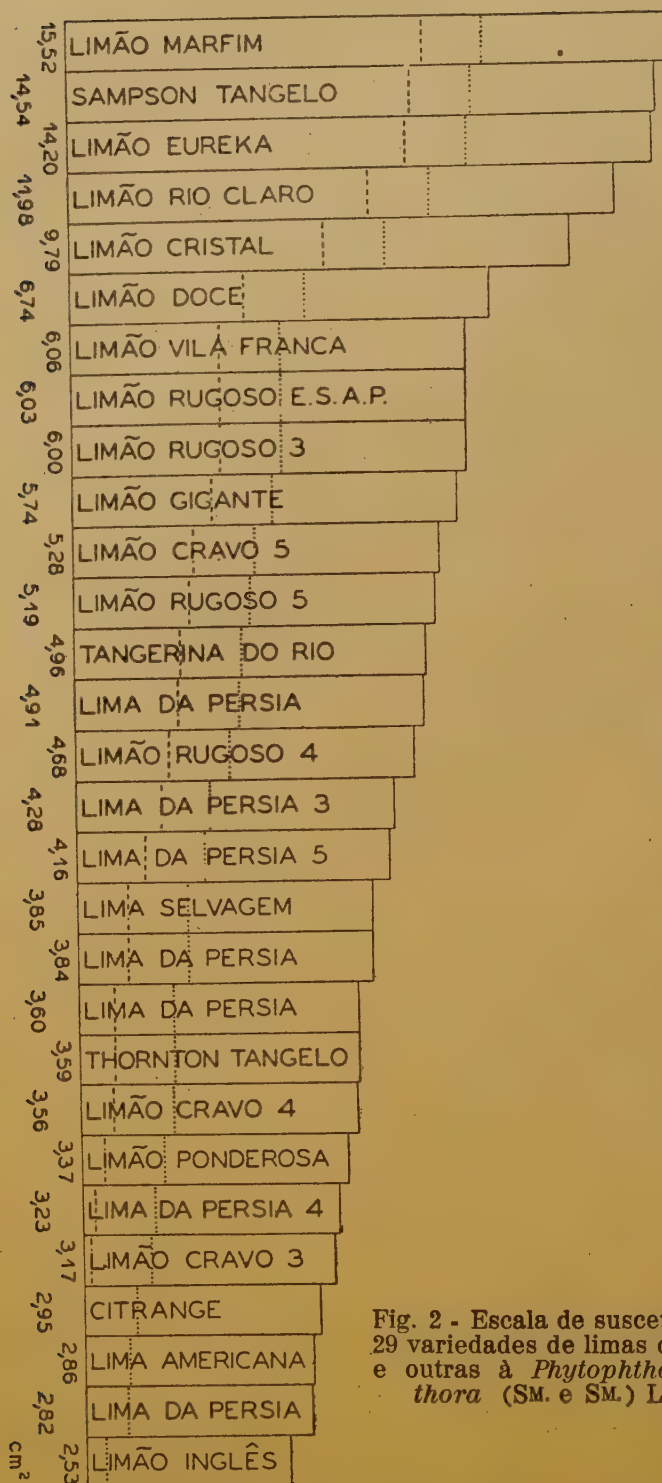


Fig. 2 - Escala de suscetibilidade de 29 variedades de limas doces, limões e outras à *Phytophthora citrophthora* (SM. e SM.) LEONIAN.

TABELA 6

Chuvas e temperaturas médias diárias na Estação Experimental de Limeira (*)
de Outubro de 1942 a Fevereiro de 1943.

DIAS	1 9 4 2						1 9 4 3			
	Outubro		Novembro		Dezembro		Janeiro		Fevereiro	
	Chuva	Temp.	Chuva	Temp.	Chuva	Temp.	Chuva	Temp.	Chuva	Temp.
1	2,4	20,6	0,1	18,7	14,5	16,4	0,0	25,4	11,5	22,3
2	0,0	21,5	0,6	21,3	1,2	14,8	0,0	22,2	3,0	20,2
3	0,0	20,0	0,0	18,7	13,0	17,2	59,5	20,4	0,0	19,4
4	0,0	21,4	0,0	20,8	0,0	16,2	0,0	19,6	0,0	18,7
5	6,0	23,6	0,0	22,5	3,5	19,7	16,3	22,3	0,0	19,7
6	0,0	26,1	0,0	22,7	0,0	21,3	0,3	21,7	0,0	20,9
7	0,0	24,2	0,0	24,6	0,0	23,2	0,0	21,1	0,0	22,2
8	0,0	18,7	0,0	24,8	0,0	20,1	17,2	17,8	0,0	23,5
9	0,0	17,7	0,0	19,7	10,2	23,5	0,0	19,7	0,0	22,7
10	0,0	17,6	0,0	21,8	0,0	20,8	16,0	18,4	5,6	23,7
11	0,0	21,3	0,0	23,2	12,0	21,5	19,0	20,5	0,8	23,1
12	0,0	24,4	0,0	24,1	0,8	24,9	0,0	23,3	6,5	22,9
13	0,0	23,0	2,0	18,7	0,0	23,3	0,0	23,8	0,0	22,6
14	15,3	18,0	7,5	17,6	10,8	22,6	33,5	19,9	12,5	20,4
15	0,0	18,1	14,0	20,9	24,0	20,5	26,8	24,0	6,6	21,6
16	6,2	18,7	0,2	21,4	0,0	22,3	0,0	22,5	10,0	22,4
17	0,0	18,1	38,5	22,1	3,5	22,0	0,0	23,3	0,0	21,9
18	0,0	19,5	0,0	21,7	0,0	18,2	0,0	22,6	5,0	21,8
19	0,0	21,5	0,0	20,9	0,0	20,0	18,0	20,1	5,5	23,7
20	0,0	25,5	0,4	19,6	0,0	18,2	74,0	19,4	0,0	22,8
21	0,0	25,5	12,2	19,6	16,0	18,3	26,0	21,3	38,5	20,8
22	0,0	24,3	0,0	19,5	16,3	19,1	23,1	22,6	4,1	22,5
23	0,0	20,3	0,0	22,8	25,0	19,0	16,0	21,5	8,7	22,9
24	0,0	18,3	0,0	20,8	43,0	20,8	0,0	20,6	0,0	21,7
25	2,3	20,6	0,0	22,7	1,3	21,5	13,2	19,0	4,8	22,2
26	2,5	16,9	0,0	21,4	4,8	19,6	0,5	19,7	0,0	20,6
27	0,3	21,5	14,2	23,5	21,5	22,3	0,0	21,5	4,0	22,1
28	2,7	20,3	11,5	23,7	0,0	20,7	17,5	20,7	0,0	21,3
29	5,0	15,2	0,0	24,6	0,0	21,7	0,4	20,4		
30	0,0	17,1	0,0	23,0	0,0	22,5	22,0	22,5		
31	0,0	19,0			0,0	23,7	3,8	21,5		

(*) Dados fornecidos pelo Serviço Meteorológico do Instituto Agrônômico.

jas Barão, Natal, Pera, Côco e Mandarin. Entre essas, a Pera e a Natal são as que parecem reunir maior número de boas qualidades como porta-enxertos para *Citrus*, notadamente maior vigor e melhor poder germinativo das sementes. São, também, as mais amplamente disseminadas, de modo que se torna mais fácil a obtenção de sementes. Ambas são de maturação tardia ⁽⁵⁾. É interessante notar que as 5 variedades citadas podem ser reunidas em um mesmo grupo, quanto à forma do fruto, que em todas é ovoide.

MOREIRA (1946a) mencionou alguns casos, que também tivemos a oportunidade de observar na Estação Experimental de Limeira, nos quais a laranja Pera, quando enxertada sobre limão Cravo, que é suscetível à gomose, parece conferir-lhe certa resistência. Assim, plantas de pomelo "Triumph" enxertadas sobre êsse porta-enxerto, que estavam fortemente atacadas pela doença, se restauraram completamente com a substituição das copas primitivas pela reenxertia com a laranja Pera. Diante desse fato, devemos considerar a possibilidade de ser modificada a ordem das espécies e variedades estudadas na escala de suscetibilidade por nós estabelecida, por influência da enxertia com determinadas variedades.

As variedades assinaladas como mais desejáveis, do ponto de vista da resistência à gomose, deverão ainda ser estudadas quanto ao seu comportamento com relação às qualidades culturais, quando enxertadas com as variedades comerciais, antes de serem preconizadas como bons porta-enxertos para *Citrus*.

SUSCEPTIBILITY OF DIFFERENT SPECIES OF CITRUS TO SOME SPECIES OF PHYTOPHTHORA

A b s t r a c t

The high susceptibility to the "tristeza" disease of Citrus, of the sweet-orange × sour-orange stock-scion combination, widely used in the State of São Paulo, Brazil, has led to an investigation of the susceptibility to foot-rot or Phytophthora gummosis of other Citrus species and varieties which may be used as stock for the sweet orange, and thus replace the highly resistant sour orange stock.

In October 1942, a number of 4 years old trees of one hundred varieties and progenies of sweet orange, grape-fruit, mandarin, calamondin, sour orange, lemon, sweet lime, etc. were experimentally inoculated with the causal agents of foot-rot: Phytophthora citrophthora (Sm. and Sm.) Leonian, P. parasitica

(5) Informações prestadas pela Secção de Citricultura do Instituto Agrônomo de Campinas.

Dastur, *P. palmivora* Butler, *P. cactorum* (L. and C.) Schroet., *P. cinnamomi* Rands, and *P. boehmeriae* Saw., from pure cultures. A new bark borer, here described, was used for these inoculations. Most of the lesions were produced by *P. citrophthora* and some by *P. cactorum*. The other species failed to produce infection. The results of these tests were, in general, unsatisfactory on account of the unfavorable environmental conditions, especially lack of humidity, which prevailed during the experiment.

In January 1943, 28 varieties of *Citrus sinensis* which had shown to be more resistant in the first experiment were reinoculated with *P. citrophthora*; 4 inoculations and one check were made on each one of 5 trees of every variety. The data were statistically analyzed. Under the conditions here described, the decreasing order of susceptibility to *P. citrophthora* for the varieties tested is as follows: Coronel, Abacaxi, Campista, Mó, São Sebastião, Sanguinea, Ouro, Seleta amarela, Caipira, Cleopatra, Hamlin, Pearson Brown, Cipó, Seleta branca, Rosa, Caipira Ortolan, Sahará, Pineapple, Lisa Paulista, Mangaratiba, Itaborai, Valencia late, Setubal, Barão, Natal, Pera, Côco, Mandarin. Natal and Pera, which also have better qualities for stock, are considered as the most interesting varieties of the lot.

In another inoculation test, 29 varieties of lemons, sweet limes and *Citrus* hybrids were inoculated with *P. citrophthora*: 4 inoculations and one check were made on each one of 3 trees of every variety. The data were statistically analyzed, and the varieties ranged from high to low susceptibility, in the following order: Marfim lime, Thornton tangelo, Eureka lemon, Rio Claro lime, Cristal lime, Sweet lemon (112), Vila Franca lemon, Rough lemon E. S. A. P., Rough lemon (58), Gigante lemon, Rangpur lime (94), Rangpur lime (60), Rio Mandarin (57), Sweet lime Maronezi, Rough lemon (59), Sweet lime (95), Sweet lime (97), Selvagem lime, Sweet lime (101), Sweet lime (100), Tangelo (115), Rangpur lime (93), Ponderosa lemon, Sweet lime (96), Rangpur lime (92), Citrange, Americana lime, Sweet lime (99), Inglês lime.

BIBLIOGRAFIA

- BATEN, W. D. — 1939 — Formulas for finding estimates for two and three missing plots in randomized block layouts. Michigan State College — Agric. Exp. Sta. Technical Bull. n. 165. 16 pp.

- BITANCOURT, A. A. — 1936 — *A podridão do pé das laranjeiras (Gomose)*. Instituto Biológico, São Paulo, Folh. n. 81. 15 pp.
- BITANCOURT, A. A. — 1940 — A podridão das radículas dos Citrus na província de Corrientes, Argentina. *O Biológico*, São Paulo, 6:356-364.
- CLAPPER, R. B. — 1944 — Improved cork-borer method for inoculating trees. *Phytopath.*, 34:761-762.
- COCHRAN, W. G. — 1938 — Some difficulties in the Statistical Analysis of replicated experiments. *The Empire Jour. of. Exp. Agric.*, 6:157-175.
- FAWCETT, H. S. — 1936 — *Citrus diseases and their control*. 2nd. Ed. McGraw-Hill Co. N. Y. 656 pp.
- FAWCETT, H. S. & A. A. BITANCOURT — 1940 — Occurrence, pathogenicity, and temperature relations of *Phytophthora* species on Citrus in Brazil and other South American countries. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, 11:107-116.
- KLOTZ, L. J. & H. S. FAWCETT — 1930 — The relative resistance of varieties and species of Citrus to *Pythiacystis gummosis* and other bark diseases. *Jour. of Agric. Res.*, 41:415-425.
- MOREIRA, S. — 1942 — Observações sobre a “tristeza” dos Citrus ou “podridão das radículas”. *O Biológico*, São Paulo, 8:269-272.
- MOREIRA, S. — 1946-a — Cavalos para citros em São Paulo. *Rev. Agr.*, Piracicaba, 41 (5-6):206-226.
- SNEDECOR, G. W. — 1946 — *Statistical Methods*. 4th. Ed. The Collegiate Press, Inc. Ames, Iowa. 485 pp.
- TUCKER, C. M. — 1931. — Taxonomy of the Genus *Phytophthora* de Bary. *Agr. Exp. Sta. Columbia, Miss. Res. Bull.* n. 153. 208 pp.
- TUCKER, C. M. — 1933 — The Distribution of the Genus *Phytophthora*. *Agr. Exp. Sta. Columbia, Miss. Res. Bul.* n. 184. 80 pp.
- WEBBER, H. J. and L. D. BATCHELOR — 1943 — *The Citrus Industry*. Vol. 1, History, Botany and Breeding. 1a. Ed. University of California Press, 1028 pp. Chapter IV — The Botany of Citrus and its wild relatives of the orange subfamily (Family Rutaceæ, Subfamily Aurantioideæ) por W. T. Swingle.
- WRIGHT, E. — 1933 — A cork-borer method for inoculating trees. *Phytopath.*, 23:487-488.

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Estampa 5

Fig. A — Furador utilizado nas inoculações em troncos de *Citrus*.

Fig. B — O mesmo aparelho desmontado, mostrando as peças que o compõem. As diversas peças estão descritas no texto.

Estampa 6

Fig. C — Pé de limão Rio Claro inoculado com *P. citrophthora* mostrando o ataque do fungo depois de 40 dias.

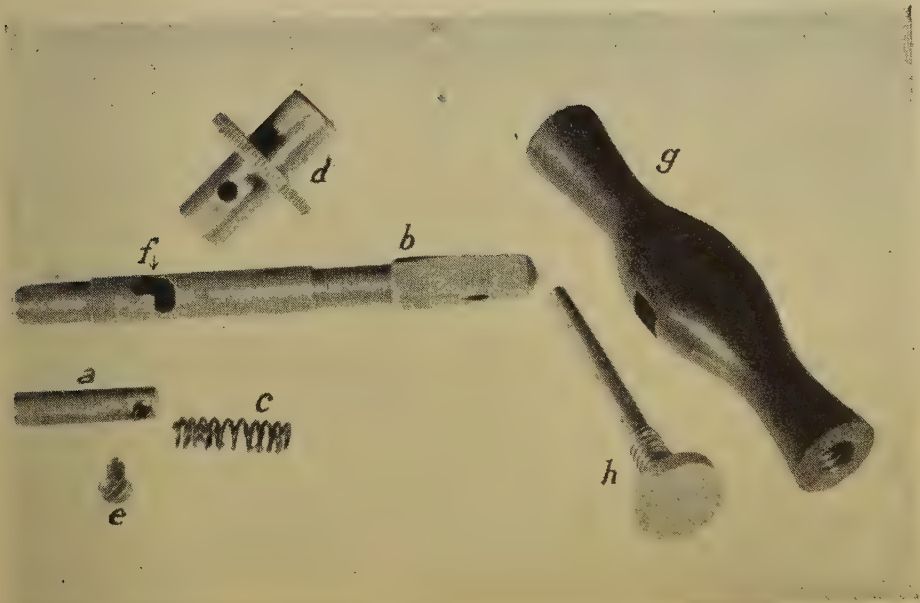
Fig. D — Pé de laranja Coronel inoculado com *P. citrophthora* em que se removeu a casca para mostrar a lesão no lenho, produzida em 15 dias.

Estampa 7

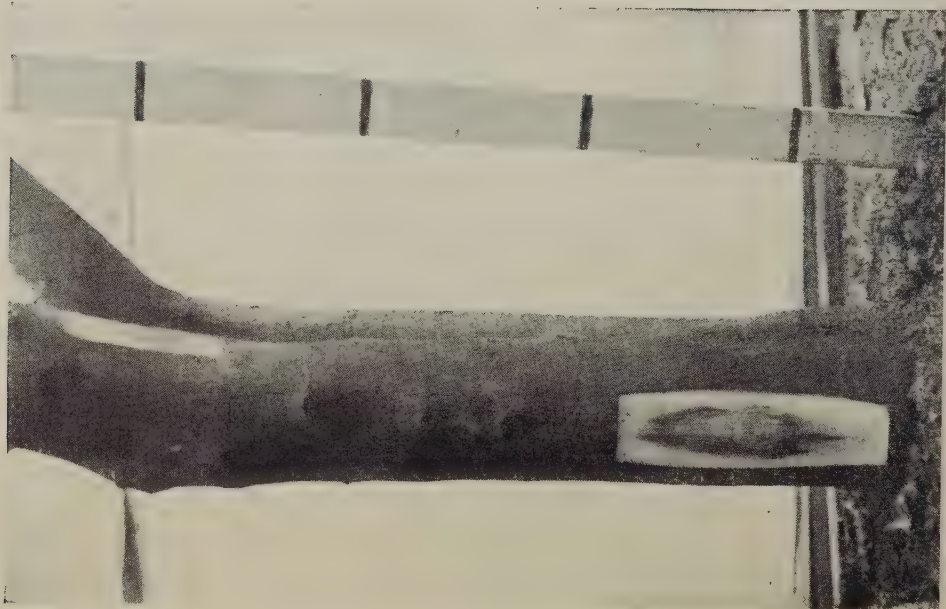
Lesões produzidas por *P. citrophthora* em 15 dias na face interna da casca de diversas variedades de laranja doce: — E, variedade Coronel; F, variedade Lisa Paulista; G, variedade Hamlin; H, variedade Natal.



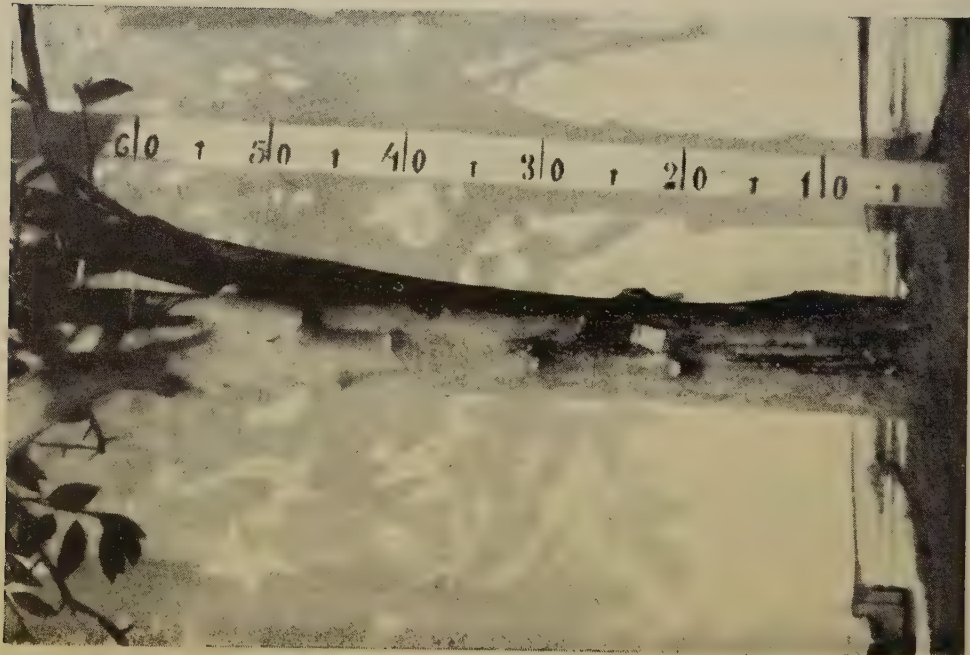
A



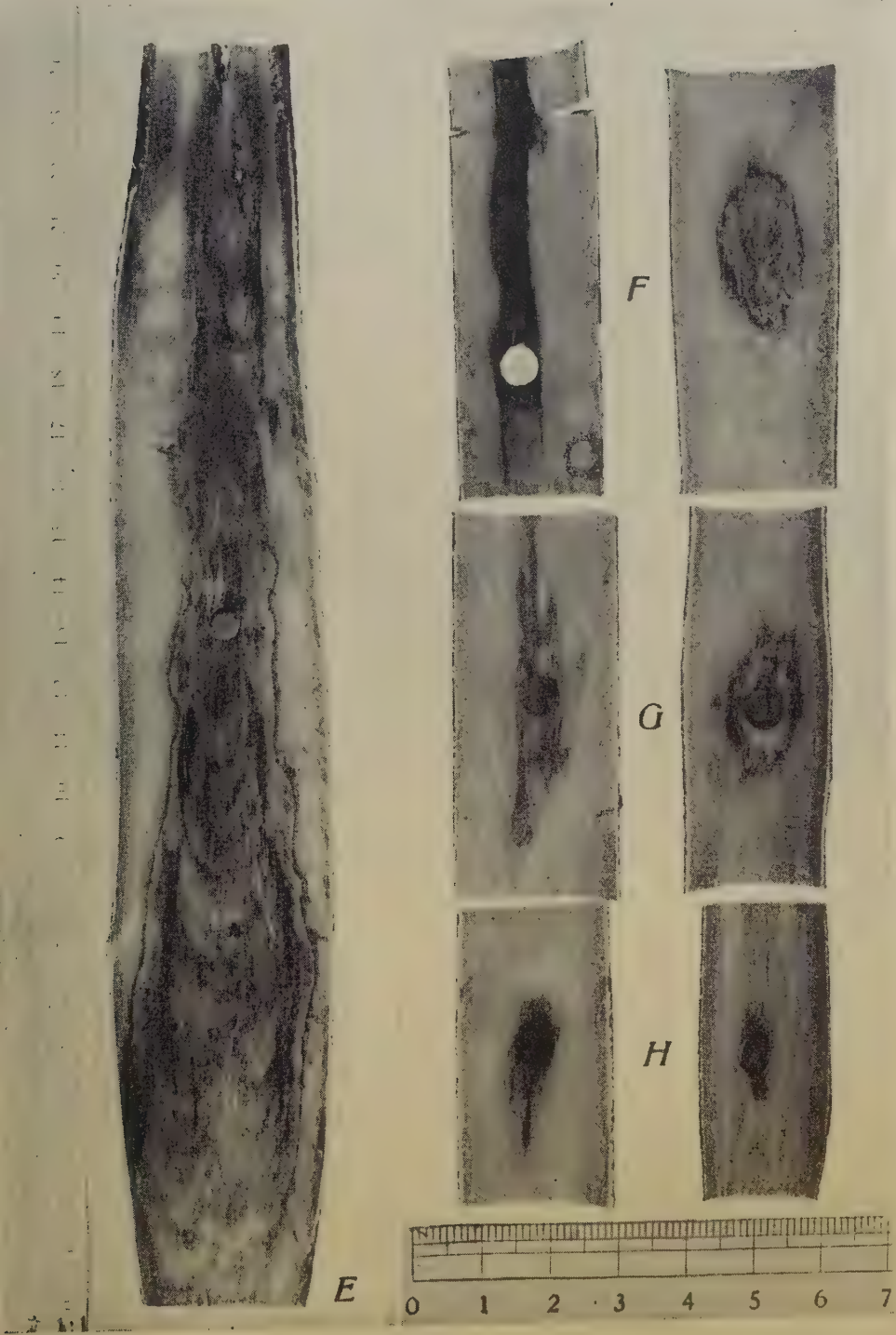
B



D



C



ÁCAROS NASÍCOLAS (PARASITIFORMES: RHINONYSSIDAE) DO PARDAL — "PASSER DOMESTICUS L."

POR

M. P. de Castro & C. Pereira

Do Instituto Biológico de S. Paulo

Com 12 figuras no texto

INTRODUÇÃO

Constam da literatura como habitantes das fossas nasais do pardal, na França e na Itália, representantes de dois gêneros de ácaros: *Ptilonyssus nudus* BERLESE et TROUESSART, 1889 e *Sternostoma cryptorhynchum* BERLESE et TROUESSART, 1889. Ambas as espécies foram descritas, mas não ilustradas, no trabalho de BERLESE et TROUESSART (1889), inacessível a nós.

A primeira espécie foi redescrita e ilustrada por BERLESE (1889), que refere e representa na fêmea um escudo anterior grande e outro posterior, pigidial, muito pequeno, característicos do gênero *Ptilonyssus* BERLESE et TROUESSART, além de lhe atribuir dois novos hospedeiros, *Conuro cruentato* L., verificado na França por TROUESSART, e *Emberiza cirius* L. na Itália, o que requer confirmação.

BERLESE não descreve o macho de *P. nudus*. Ao enumerar entretanto os caracteres do gênero inclui uma referência ao macho, do qual representa a face ventral na figura 10 da estampa (1) do fascículo 54. A figura 9 da mesma estampa não é acompanhada de legenda; no entanto representa indubitavelmente a face dorsal do mesmo macho da figura 10. Vêem-se nela dois escudos dorsais grandes, um anterior, podosômico, e outro posterior, opistosômico, o que iria caracterizar mais tarde o gênero *Neonyssus* HIRST, 1921.

A segunda espécie não foi redescrita nem ilustrada por BERLESE (1889), mas como é de gênero bem diverso das espécies que vamos considerar, não oferece perigo de confusão e pode ser deixada de lado.

OUDEMANS (1905), que julgou ter encontrado o *P. nudus* em *Fringilla coelebs* L., na Holanda, assinala a presença de um grande

escudo ventral e sugere a conveniência de ser modificada sua diagnose, nos seguintes termos (p. 237): "Het ♂ heeft een groot abdominaalschild. Derhalve moet de diagnose van het genus, alsmede die der species, geivijzigd worden". Portanto, o macho referido por OUDEMANS está conforme a figura 9 de BERLESE e não como pretende VITZTHUM (1935, p. 579), que provavelmente se equivocou ao interpretar o texto do autor holandês: "OUDEMANS gibt 1905 (Seite 237) an, die Rueckenflaeche des Maennchens sei von einem einheitlichen Schilde ganz bedeckt".

HIRST (1916) encontrou em pardais ingleses numerosas fêmeas do que considerou, louvando-se no hospedeiro, ser o *P. nudus*. A descrição sumária dos caracteres dessas fêmeas indica entretanto não ter ele lidado com a espécie de BERLESE *et* TROUESSART, pois não encontrou o escudo pigidial, e sim um escudo opistosômico grande, o que o deixou na dúvida quanto à exatidão da sua identificação. VITZTHUM (1935) critica a observação de HIRST e acha que sua espécie, não só não deve ser o *P. nudus* como provavelmente pertencerá ao gênero *Neonyssus*.

Portanto as duas espécies descritas do pardal por BERLESE *et* TROUESSART (1889) são mal conhecidas. Deixando de lado o *S. cryptorhynchum*, que no momento não interessa, verificamos que *P. nudus* teve sua descrição baseada em fêmeas, que devem ser consideradas o material típico. A curta referência ao macho na diagnose genérica de BERLESE (1889) e sua possível ilustração na figura 9, sem legenda, indicam que o material deste sexo pertence na realidade a uma espécie do gênero *Neonyssus*, ainda inominada. O breve informe de OUDEMANS não esclarece o assunto, principalmente por se tratar de outro hospedeiro. A descrição sumária de HIRST permite a identificação da espécie com que trabalhou, e VITZTHUM tem razão quando acha que o material de HIRST pertence ao gênero *Neonyssus*.

Tivemos a oportunidade de examinar vários pardais provenientes de São Paulo (Estado de São Paulo) e de Curitiba (Estado do Paraná), nos quais encontramos somente fêmeas, correspondentes às estudadas por HIRST, que descreveremos como espécie nova em homenagem ao pesquisador inglês.

Graças à gentileza do Snr. A. SERRÃO SAMPAIO, que voltava de uma viagem a Portugal, pudemos dispor ainda de vinte e cinco cabeças de pardal, caçados nas proximidades de Coimbra, pelo que

lhe consignamos nossos agradecimentos. Este material, que foi conservado em formol a 20 por cento, chegou em condições excelentes e foi particularmente interessante, pois não só contribuiu com muitos espécimes da espécie nova, inclusive dois machos, bem comparáveis à figura 9 de BERLESE, como nos proporcionou ainda fêmeas que correspondem ao autêntico *P. nudus*, que assim poderá ficar claramente caracterizado.

Portanto a acarofauna nasícola do pardal passa a ser constituída por três espécies, pertencentes a gêneros distintos: *Sternostoma cryptorhynchum*, que não conseguimos encontrar e por isso não será levada em consideração neste trabalho; *Ptilonyssus nudus*, do qual não se conhecem os machos, e cujas fêmeas encontramos e redescrevemos; e *Neonyssus hirsti* n. sp., cujos machos foram figurados por BERLESE como de *P. nudus*, e cujas fêmeas foram estudadas sumariamente por HIRST como se fossem as de *P. nudus*; o abundante material de que dispomos desta última espécie permite-nos dar dela uma boa descrição.

E' interessante observar que das três espécies que ocorrem no pardal, justamente a espécie nova parece a mais comum e de distribuição mais ampla, pois já era conhecida da Itália e Inglaterra, passando agora a ser registrada também em Portugal e no Brasil. *P. nudus*, já conhecido da Itália e da França, o é agora de Portugal, não havendo ainda sido encontrado no Brasil. Finalmente, *S. cryptorhynchum* parece a espécie mais rara, pois somente foi assinalada na França.

Ptilonyssus nudus BERLESE et TROUESSART, 1889

Por não termos tido a oportunidade de encontrar os machos e outros estádios do desenvolvimento desta espécie, ainda desconhecidos, limitamo-nos a descrever as fêmeas. Nosso estudo baseia-se em três exemplares obtidos de pardais europeus, caçados nos arredores de Coimbra, Portugal, pelo Snr. A. SERRÃO SAMPAIO, a quem reiteramos nossos agradecimentos.

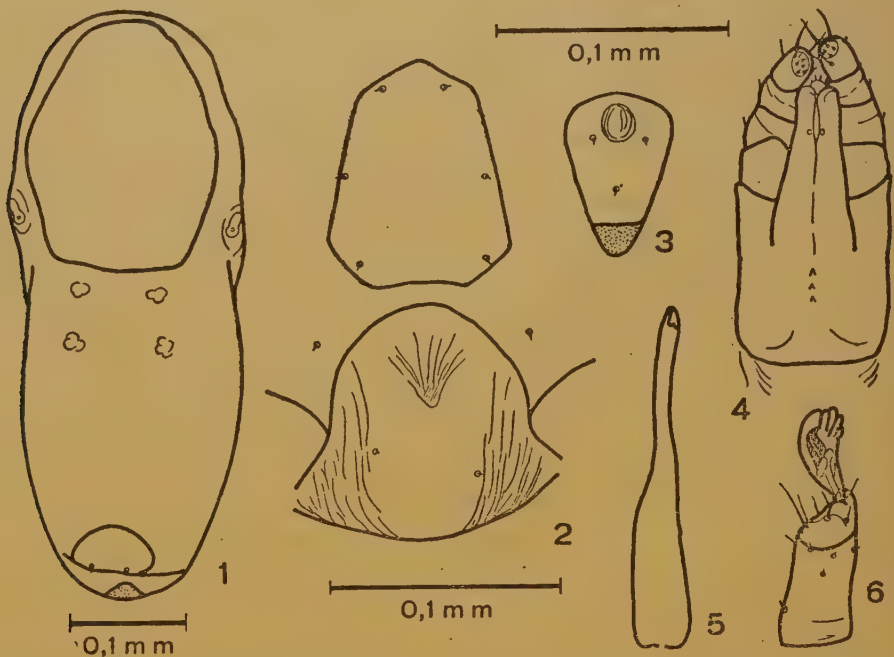
Generalidades. — Corpo alongado, com cintura bem acentuada atrás do 4.º par de pernas, que o divide nitidamente em podosoma e opistosoma. As pernas grupam-se no podosoma. O gnatosoma insere-se entre as coxas I, mas é bem visível dorsalmente.

Comprimento (excepto o gnatosoma): 0,534 a 0,616 mm.

Largura (máxima do opistosoma): 0,214 a 0,271 mm.

Face dorsal (Fig. 1). — Apresenta anteriormente um escudo grande, que recobre toda a face dorsal do podosoma. Quase todo o opistosoma é revestido por um tegumento membranoso estriado, menos na extremidade posterior, onde existe um pequeno escudo com um par de cerdas posteriores. Ao nível da cintura notam-se ainda quatro pequenos escutelos, que se destacam do tegumento membranoso estriado, circunvizinho, não só pelo contorno arredondado, com algumas denteações, como pela ausência de estrias; correspondem às áreas de implantação dos músculos dorso-ventrais.

Chamamos a atenção para a inexatidão da figura 9 de BERLESE (1889), onde o escudo dorsal anterior é representado muito curto, pois alcança apenas a linha dos estigmas; isso não corresponde à verdade, como é documentado por nossa figura n.º 1.



Ptilonyssus nudus BERLESE et TROUESSART, 1889: Fêmea. Fig. 1 — face dorsal; fig. 2 — esternalia e genitalia; fig. 3 — analia; fig. 4 — gnatosoma — face ventral; fig. 5 — quelicera; fig. 6 — tarso I.

Face ventral (Fig. 2). — Dotada de um escudo esternal bem nítido, se bem que pouco esclerosado, com os três pares usuais de cerdas dispostas simetricamente nos bordos laterais. Logo atrás, no tegumento mole, está implantado um par de cerdas metaesternais. Vem a seguir a genitália, situada entre as coxas IV, protegida por um opérculo do tipo habitual no grupo; é constituída por uma parte central mais esclerosada, portadora de um par de cerdas, e de duas laterais, de tegumento membranoso grosseiramente estriado.

BERLESE (1889) localiza corretamente a genitália no texto, mas erra ao ilustrá-la muito atrás das coxas IV e ao atribuir-lhe forma inteiramente arbitrária.

O escudo anal (Fig. 3) lembra um triângulo isósceles de cantos arredondados, com o ângulo mais agudo voltado para trás. O anus ocupa nele situação bem anterior, quase marginal, e é seguido por três cerdas dispostas triangularmente. Na ponta posterior do escudo existe pequena área porosa.

Gnatosoma (Fig. 4). — É bem mais comprido — 0,124 a 0,128 mm, sem contar os palpos — do que largo — 0,066 a 0,068 mm. Tanto o epistômio como o hipostômio são membranosos, mas a extremidade anterior do primeiro é nitidamente denticulada; ambos chegam a atingir o 4.º articulo palpal. O palpo tem 5 articulos, dos quais o último não vai além de ligeira incrustação no 4.º articulo, que oferece inserção a grande quantidade de cerdas minúsculas. No 4.º articulo existem cerdas muito grandes, principalmente duas mais anteriores, que BERLESE denomina “apicais”, cujo comprimento equivale ao do articulo. No desenho de BERLESE (1889) o comprimento de tais cerdas foi amplamente exagerado. As queliceras (Fig. 5) são longas, engrossadas na base, mas vão afinando a partir da segunda metade, até terminarem em minúscula pinça.

Pernas. — São delicadas, com o primeiro par bem mais avantajado e dotado de um par de garras ligeiramente menores do que as dos demais, mas completamente envolvidas por um grande ambúlacro. As cerdas das pernas são muito mal desenvolvidas, com exceção das apicais dos tarsos, que podem atingir a metade do comprimento do ambúlacro.

Neonyssus hirsti, n. sp.

Sin.: *Ptilonyssus nudus*, pro parte (♂), apud BERLESE (1889).

P. nudus (♀), apud HIRST (1923).

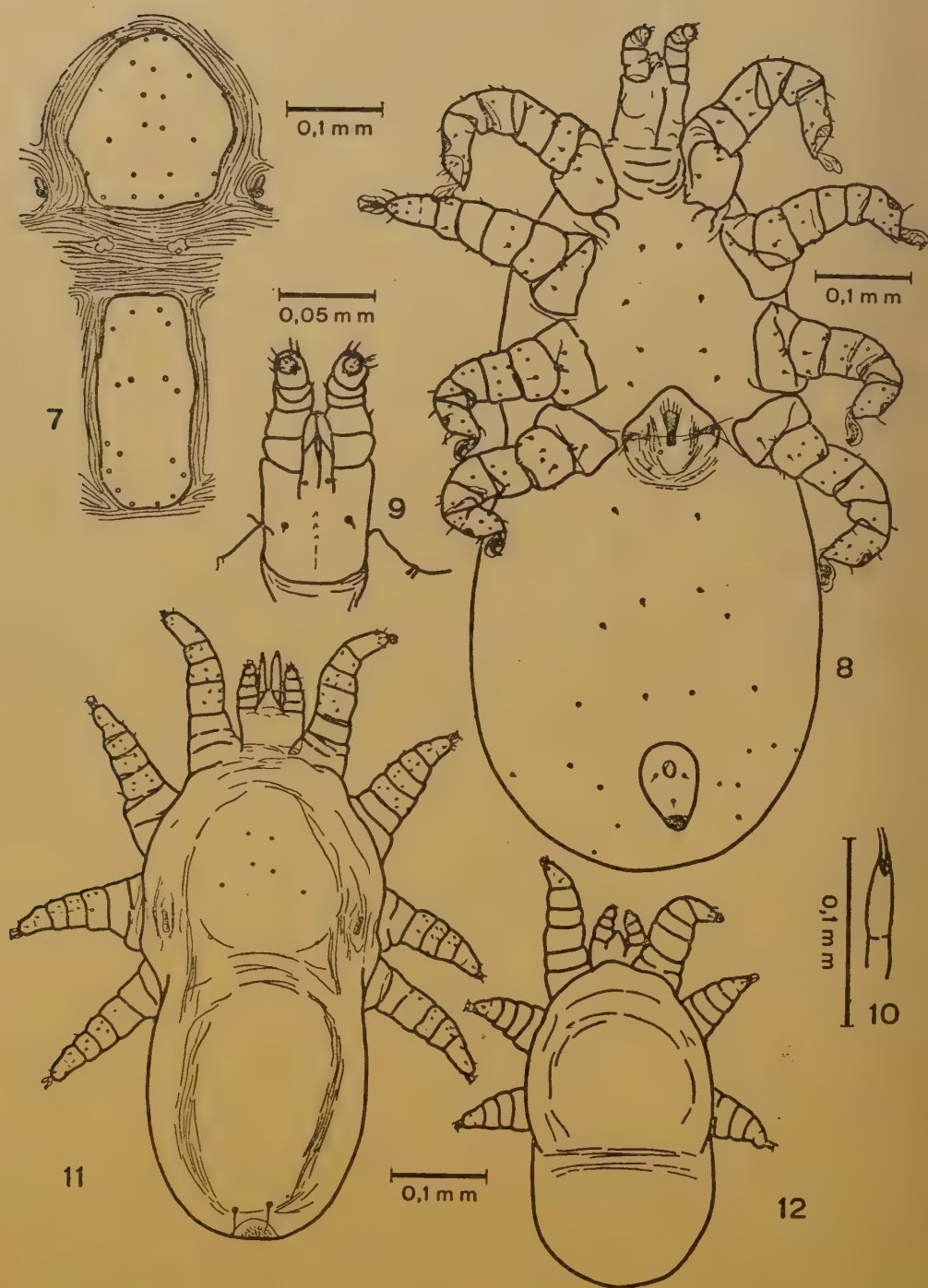
Generalidades. — Semelhante no aspecto e dimensões a *Ptilonyssus nudus*, tem também uma cintura nítida atrás do 4.º par de pernas, que divide o corpo em opistosoma e podosoma, sendo neste a inserção das pernas. Alguns espécimes são brancos, outros avermelhados ou pardo-escuros, dependendo a cor somente do conteúdo intestinal, pois o revestimento cutâneo é quasi nada esclerosado.

FÊMEA.

Comprimento (sem o gnatosoma): 0,575 a 0,624 mm.

Largura (máxima opistosômica): 0,258 a 0,312 mm.

Face dorsal (Fig. 7). — Dorso recoberto por 2 escudos pouco esclerosados, que se distinguem do restante do tegumento mole, estriado, por apresentarem textura finamente pontuada. Tal pontuação é substituída em determinados lugares por áreas arredondadas de tegumento liso, que tendem a compor um padrão simétrico, e correspondem aos sitios de implantação da musculatura dorso-ventral. Os escudos são providos de cerdas escassas,



Neonyssus hirsti, n. sp.: Fêmea. Fig. 7 — escudos dorsais; fig. 8 — face ventral; fig. 9 — gnatosoma — face ventral; fig. 10 — Macho — quelicera; fig. 11 — Ninf — face dorsal; fig. 12 — Proteroninf — face dorsal.

distribuídas irregularmente, mas tão pequenas e atrofícas, que se tornam às vezes apenas vestigiais, sendo representadas por vezes somente por suas aréolas de implantação.

O escudo anterior ou podosômico é pentagonal, com os ângulos rombos. O escudo posterior, ou opistosômico é aproximadamente retangular, acompanhando o sentido do maior eixo do animal. Ha entre os dois escudos 2 escutelos de tegumento liso, correspondentes ao nível da inserção de um par de músculos dorso-ventrais. Os estigmas ficam situados pouco adiante do bordo posterior do escudo anterior, sendo envolvidos por pequeno peritrema.

Face ventral (Fig. 8). — O lugar que corresponderia ao escudo esternal é assinalado por 3 pares de cerdas que se implantam no tegumento mole. Além destas, as cerdas ventrais são representadas por 1 par metasternal, 2 pares na genitália e mais 10 pares esparsos pelo abdome. As cerdas ventrais são um pouco mais desenvolvidas do que as dorsais, mas ainda muito reduzidas.

A abertura genital está situada ao nível do 4º par de coxas e é protegida por um opérculo, provido anteriormente de uma lingueta arredondada. O opérculo apresenta uma zona central mais esclerosada, que emite para a frente processos dendríticos e é ladeada por áreas de tegumento mole grosseiramente sulcado. Entre os primeiro e segundo pares de pernas existe uma excrecência tegumentar, de cada lado, comparavel a um broto, cuja significação nos escapa. O escudo anal é alongado e piriforme, com o anus em situação anterior, seguido por 3 cerdas e a área porosa.

Pernas. — São relativamente delicadas, com algumas cerdas muito curtas e outras, principalmente as terminais dos tarsos, bem maiores, conquanto não cheguem a alcançar a metade do comprimento do ambúlacro. A garra do primeiro par é atrofiada, o que é compensado, porem por um desenvolvimento excepcional do ambúlacro. As garras dos pares restantes são normais.

Gnatosoma (Fig. 9). — É pouco mais longo do que largo, medindo de comprimento (sem os palpos) 0,082 a 0,091 mm, e de largura (ao nível da base) 0,054 a 0,064 mm. Tanto o epistômio como o hipostômio são membranosos, bem mais curtos do que em *Ptilonyssus nudus*, pois atingem somente a altura do 3º artículo palpal. O 5º artículo do palpo é muito pequeno e permanece incrustado na face ventral do 4º artículo. As cerdas palpais e gnatosômicas são pequenas, exceto as terminais do 4º artículo palpal, das quais ha duas que sobressaem por suas dimensões, mas não tanto quanto as correspondentes de *P. nudus*. As quelíceras são cilíndricas, frágeis, e terminam em pinça muito curta.

MACHO.

Muito semelhante à fêmea, mas um pouco menor, pois mede 0,411 a 0,493 mm de comprimento por 0,189 a 0,222 mm de largura. O escudo posterior é relativamente mais largo.

A abertura genital está situada logo atrás do gnatosoma e corresponde ao habitual no grupo.

As garras das pernas I não diferem das das outras pernas.

As quelíceras são relativamente mais robustas do que as da fêmea, tendo a pinça bem mais comprida, com cerca de 1/3 do comprimento total do apên-

dice. Os dedos das pinças são achatados a maneira de bico de pato, de tal modo que, vistas de perfil parecem muito finas e de outro modo mostram-se alargadas (Fig. 10).

Ninfa (Fig. 11).

Assemelham-se aos adultos, com dimensões tão elásticas que deixam de ter qualquer significação. O número de cerdas é muito reduzido. As 2 cerdas posteriores do escudo opistosômico são bem desenvolvidas. Estigmas com peritremas bem menores do que os dos adultos e mais simples. Garras muito pequenas, mas todas de igual tamanho.

Proteroninfa (Fig. 12).

Corpo inteiramente membranoso, acinturado atrás do 3º par. Ausência de cerdas quase completa, exceto nas extremidades das pernas. Garras pequenas, mas todas de igual tamanho.

Principais diferenças entre as fêmeas das duas espécies

Ptilonyssus nudus B. et T., 1889

Escudo opistosômico pequeno.
Com escudo esternal.
Gnatosoma longo, alcançando o 4º articulo palpal.
Epistômio denticulado.
Cerdas apicais dos palpos muito maiores do que as outras.
Quelíceras grossas na base e mais adelgadas na ponta.
Sem eminência tegumentar entre as inserções das coxas I e II.

Neonyssus hirsti, n. sp.

Escudo opistosômico grande.
Sem escudo esternal.
Gnatosoma mais curto, alcançando o 3º articulo palpal.
Epistômio liso.
Cerdas apicais dos palpos pouco maiores do que as outras.
Quelíceras cilíndricas e muito frágeis.
Com eminência tegumentar entre as inserções das coxas I e II.

NASICOLOUS MITES (PARASITIFORMES: RHINONYSSIDAE) FROM THE SPARROW — *PASSER DOMESTICUS* L.

Abstract

Two species of mites were known to occur in the nasal cavities of the sparrow: PTILONYSSUS NUDUS and STERNOSTOMA CRYPTORHYNCHUM.

The accurate study of the material obtained from European, as well from Brazilian sparrows, led to the following conclusions:

1. *There are really three species, a third one being named NEONYSSUS HIRSTI n. sp.*

2. *The first species was found only in the Portuguese material, and it is redescribed on account of the inadequacies of the original description.*

3. *The second one was not found either in Brazilian or in Portuguese sparrows, and received no attention in this paper.*

4. *The new species was found both in the Brazilian and in the Portuguese sparrows; it had been confused by Berlese with P. NUDUS and was later redescribed under this name by Hirst. Now the species is named in honour of the British acarologist.*

BIBLIOGRAFIA

- BERLESE, A. — 1889 — Acari, Myriapoda & (Pseudo) Scorpiones hucusque in Italia reperta. Ordo Mesostigmata, 26-28, 53 (10) est. 27, 54 (1) est. 26.
- BERLESE, A. & E. TROUESSART — 1889 — Diagnoses d'Acariens nouveaux ou peu connus. *Bulletin de la Société de Sciences Naturelles de l'Ouest de la France* (Nantes) 2 (2): 126-130. Apud Vitzthum (1935).
- HIRST, S. — 1916 — Notes on parasitic Acari. *Journal of Zoological Research* 1: 73-74.
- OUDEMANS, A. C. — 1905 — Acarologische Aanteekeningen, XVIII. *Entomologische Berichten*, 1: 237.
- VITZTHUM, H. G. — 1935 — Milben aus der Nasenhöhle von Vögeln. *Journal fuer Ornithologie*, 83 (4): 563-587.

OBSERVAÇÕES SOBRE OS MEIOS QUÍMICOS DE CONTRÔLE DO GAFANHOTO MIGRATÓRIO SUL-AMERICANO "SCHISTOCERCA CANCELLATA (SERV.)" SOB AS FÓRMAS DE POLVILHAMENTOS E PULVERIZAÇÕES.

POR

H. S. Lepage, O. Giannotti e A. Orlando

Do Instituto Biológico de S. Paulo

Com as estampas 8-9

INTRODUÇÃO E LITERATURA

A aplicação de inseticidas, em polvilhamentos ou pulverizações, como processos de controle dos gafanhotos migratórios, tem sido estudada por diversos entomologistas, principalmente na Argentina, Inglaterra, Estados Unidos e Africa, onde diferentes compostos químicos foram experimentados.

Em 1938-39, NOLTE (11) constatou na União Sul Africana, que os polvilhamentos dos produtos conhecidos por "3436", "K3" e outros contendo 4,6 — dinitro-o-cresol, foram bastante eficazes no controle das formas jovens e adultas dos gafanhotos *Locustana pardalina* (WALKER) e *Nomadacris septemfasciata* (SERVILLE), verificando também completa ineficiência dos polvilhamentos de 2,6 — dinitro-p-cresol para essas mesmas espécies de acridios.

Na Argentina, em 1940, CARLOS A. LIZER TRELLES (13), trabalhando com *Schistocerca cancellata* (SERV.), depois de ensaiar diversas substancias, como arsenito de sódio, sôda caustica, sulfato ferrico amoniacal, silicato de sódio e rotenona, indica o dinitro-o-cresol como o mais ativo. Os produtos contendo 4,6 — dinitro-o-cresol foram os mesmos, isto é, o "3436", "K1", "K2" e "K3", tendo os três ultimos respetivamente 5,10 e 15% de principio ativo. O "3436" e "K3", foram os que apresentaram melhores resultados.

No mesmo ano, nos Estados Unidos, DECKER e DRAKE, (2), trabalhando com gafanhotos do genero *Melanoplus*, verificaram que o 3,5 dinitro-o-cresol e o 2,4 dinitro-o-fenol eram bastante ativos para os citados insetos, seguindo-se, com eficiencia um pouco menor, o dinitro-o-ciclohexylfenol.

Em 1944 ABEL GOYTIA e PABLO KÖHLER (4) analisam as possibilidades de aplicação de inseticidas à base de arsenito de sódio, piretro e 3,5 dinitro-o-cresol, e terminam indicando o uso deste ultimo composto diluido a 10% em talco ou outro material inerte, principalmente pela sua baixa toxicidade aos animais superiores e por ser o mais ativo para o inséto. Quanto ao piretro, a que se referem ligeiramente, dizem que embora os inseticidas liquidos à base de piretrinas sejam ativos, são de aplicação difficil por causa do enorme volume de liquido a ser empregado; não se referem, porem, a aplicações desse inseticida em polvilhamentos. Em 1946 o Ministério da Agricultura da Argentina (1), por intermédio do seu serviço de luta contra o gafanhoto, recomenda igualmente o uso do dinitro-o-cresol a 10% sob a fórmula de polvilhamento. Recentemente, na Inglaterra, com a descoberta do "666" — hexacloro-ciclohexana — verificou-se que esse derivado clorado tinha intensa atividade contra os gafanhotos migratórios, tendo sido empregado, com ótimos resultados, sob a fórmula de isca venenosa, em uma invasão de gafanhotos na Sardenha.

Finalmente, em 1947, R. E. HILL e E. HIXSON (5), do Departamento de Entomologia da Universidade de Nebraska, E. J. HENMAN e F. T. COWAN (6), da "Division of Cereal and Forage Insect Investigations" do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, estudaram a atividade de novos inseticidas, como o "666", "1068", e Toxafeno, sobre gafanhotos do genero *Melanoplus*, em ensaios de laboratório e campo, e determinaram as concentrações necessárias para o contróle desses inséto.

Com as invasões de gafanhotos ocorridos nos Estados do sul do Brasil em 1946-1947, tivemos oportunidade de realizar numerosos ensaios de laboratório e de campo, o que nos permitiu não só confirmar os resultados já conhecidos, como também avaliar as propriedades tóxicas de outros compostos com relação a esse inséto. As substancias encontradas como mais ativas foram posteriormente experimentadas no campo, tendo sido essas experiências realizadas no Estado do Rio Grande do Sul.

Em 1946, tendo os gafanhotos atingido o Estado de S. Paulo, apresentou-se o grave problema de combatê-los com um inseticida capaz de ser adquirido imediatamente. Logo de início, constatamos, de fato, a intensa atividade do gammexane e do dinitro-o-cresol.

Consequentemente, a solução do problema seria a importação desses inseticidas, de preferencia o gammexane, dada sua inocuidade às plantas, o que não se verifica com o dinitro-o-cresol, que produz intensas queimaduras em um grande número de vegetais. Tais importações, entretanto, não puderam ser efetuadas, simplesmente pelo fato de não existirem, no momento, nos mercados fornecedores, os referidos inseticidas. Diante de tal óbice, procuramos saber quais as possibilidades de fabricação imediata de um daqueles produtos e o que se nos apresentou com melhores perspectivas foi o 3,5 — dinitro-o-cresol, pelo fato de existirem entre nós grande quantidade de uma mistura de cresóis, material apropriado para a síntese daquele inseticida. Recorremos então ao ilustre químico e cientista, Prof. Q. MINGOIA, que analisando uma amostra do referido material verificou ser nele baixa a porcentagem de orto-cresol, e portanto, impróprio para o que desejávamos. Concomitantemente, em nossos ensaios de laboratório, verificamos, como já havia sido constatado por DECKER e DRAKE com relação a gafanhotos de gênero *Melanoplus*, que outro derivado nitrado, o 2,4 dinitro-orto-ciclo-hexil-fenol, tinha atividade comparável ao 3,5 dinitro-o-cresol. Sem resolver definitivamente o problema, tal observação sugeriu ao Prof. Q. MINGOIA outro caminho, o da possibilidade de ser tóxico o 2,4 dinitro-o-fenol, composto que poderia ser imediatamente fabricado, por ser uma fase de uma indústria existente entre nós, a do preto de enxofre. Em nossos ensaios, em que nos utilizamos de uma amostra de 2,4 dinitro-o-fenol trazida da Ind. de Anilinas “Enia”, verificamos que, de fato, esse composto poderia perfeitamente substituir o clássico 3,5 dinitro-o-cresol, com as mesmas vantagens e inconvenientes. Assim, com a orientação do Prof. Q. MINGOIA, foi satisfatoriamente resolvido o problema.

TÉCNICA E MATERIAL

Nos nossos ensaios, empregamos numerosos compostos químicos, alguns já bastante conhecidos como inseticidas, como a rotenona, piretrinas, emulsão de bissulfureto de carbono etc., outros cujas propriedades inseticidas foram descobertas recentemente, como o DDT, “666 ou Hexaclorociclohexana” o “1068”, também conhecido sob as denominações de Octaklor, Clordane e Velsicol, o Toxafeno, o Bladan, e finalmente certo número de derivados orgânicos dos quais pouco ou nada se sabia quanto à atividade sobre os gafanhotos.

TABELA 1

Toxicidade de diferentes compostos químicos, sob a fôrma de polvilhamento, para o adulto de *Schistocerca cancellata* (Serv.)

COMPOSTO QUÍMICO E QUANTIDADE USADA	Diluição	N.º de insetos	Observação após		Número de mortos após 24 hs.	% de mortos após 48 horas
			4-5 hs.	24 hs.		
3,5 dinitro-o-cresol 0,5 gr	5%	18	5v. 6i. 7m.	1v. 2i. 15m	17	94,2
		20	2v. 18m.	1v. 1i. 18m.	19	95,0
idem	10%	20	11v. 2i. 7m.	20m.	20	100,0
		19	19m.	19m.	19	100,0
idem 1 gr	10%	21	21m.	21m.	21	100,0
		21	21m.	21m.	21	100,0
2,4 dinitro-o-fenol 0,5 gr técnico (80%) (*)	5%	21	12v. 5i. 4m.	8v. 1i. 12m.	14	66,6
		22	—	17v. 5m.	7	31,8
idem	10%	21	5v. 5i. 11m.	4v. 1i. 16m.	19	90,4
		20	—	13v. 2i. 5m.	10	50,0
idem 1 gr	10%	19	17m. 1i. 1v.	19m.	19	100,0
		19	9m. 5i. 5v.	13m. 5i. 1v.	19	100,0
2,4 dinitro-o-ciclo hexil-fenol 0,5 gr	5%	19	—	ascéto normal	13	68,4
		22	19v. 2i. 1m.	14v. 2i. 6m.	9	40,9
idem	10%	20	4v. 5i. 11m.	1i. 19m.	20	100,0
		22	3v. 8i. 11m.	2v. 2i. 18m.	20	90,5
idem 1 gr	10%	20	17m. 3i.	20m.	20	100,0
		21	18m. 3i.	20m.	21	100,0

(continua)

(Continuação)

Cloro dinitro benzol. 1:2:4. - 0,5 gr	5%	21	—	16v. 1i. 4m.	11	52,3
		12	aspéto normal	11v. 1i. 1m.	3	25,0
idem	10%	17	"	13v. 2i. 2m.	5	29,4
		16	"	14v. 2i.	3	18,7
idem 1 gr	10%	22	—	2m. 5i. 15v.	18	81,8
		16	2i. 14v.	1m. 1i. 14v.	5	31,2
2, 4, 6-trinitro-fenol 1 gr	10%	19	—	aspéto normal	0	0
Cyclo hexyl fenol 1 gr (*)	10%	20	—	5m. 1i. 13v.	8	40,0
Dinitro-naphtaleno 1 gr	10%	23	—	aspéto normal	5	21,7
Ac.-dinitro benzoico 3,5 gr (*)	10%	16	aspéto normal	1m. 15v.	1	6,2
Orto-nitro-fenol 1 gr (*)	10%	17	aspéto normal	2m. 1i. 14v.	6	35,2
Para-nitro-fenol 1 gr (*)	10%	18	aspéto normal	7m. 2i. 9v.	11	61,1
Testemunha	—	23	—	aspéto normal	2	8,6
Testemunha	—	21	—	aspéto normal	3	14,2

NOTA: — Os materiais assinalados foram-nos cedidos pelo Prof. A. Mingoja.
m — mortos; v — vivos. i — intoxicados.

TABELA 2

Toxicidade de diferentes compostos químicos, sob a forma de polvilhamento, para o adulto de *Schistocerca cancellata* (Serv.)

COMPOSTO QUÍMICO E QUANTIDADE USADA	Diluição	N.º de insetos	Observação após		N.º de mortos após 48 horas	% de mortos após 48 horas
			4-5 hs.	24 hs.		
Pó fr de piretro (1) 1 gr	0	20	20i.	4i. 16m.	20	100,0
idem	50%	20	21i.	15i. 5m.	16	80,0
idem	33,3%	21	20i.	13i. 8m.	18	85,7
idem	20%	22	15i. 7v.	9v. 9i. 4m.	11	50,0
Kryocide 1 gr	33,3%	20	—	10v. 3i. 7m.	13	65,0
Diamido azo benzol 1 gr	10%	14	—	10v. 4i.	7	50,0
Azolitmina 1 gr	10%	16	—	7v. 4i. 5m.	12	75,0
Disulfeto de benzoila 1 gr	10%	20	—	16v. 1i. 3m.	4	20,0
Tartaro emético 1 gr	10%	19	—	15v. 4m.	6	31,5
Cloro benzol indo fenol 1 gr	10%	21	—	20v. 1m.	1	4,7
Cloroformio hydro quimona - 1 gr	10%	21	—	aspéto normal	2	9,5
Difenylamina 1 gr	10%	21	—	13v. 2i. 6m.	16	76,1
p.p'dicloro-difenil tricloroetana (DDT técnico) 1 gr	10%	20	—	14v. 7m.	12	60,0
		20	—	17v. 2i. 1m.	3	15,0
	40%	20	—	12v. 4i. 4m.	16	80,0
		20	—	12v. 5i. 3m.	16	80,0
p.p'dicloro-difenil sulfona 1 gr	10%	10	—	aspéto normal	1	10,0
Dianisiltricloroetana 1 gr	10%	10	—	aspéto normal	0	0,0
p.dinitro-difenil sulfeto	10%	10	—	aspéto normal	0	0,0

NOTA: (1) — Piretro de origem alemã, marca J. D. Riedel.

(2) — Os materiais assinalados foram-nos cedidos pela Rhodia Brasileira S/A.

(3) — Material cedido pelo Prof. Mingoja.

m — mortos; v — vivos; i — intoxicados.

tos, ou mesmo sobre os insetos em geral. A aplicação das substancias empregadas no presente estudo foram feitas em polvilhamentos ou pulverizações. Em ambos os casos os compósitos eram diluidos nas concentrações desejadas, em talco ou kaolim, e a seguir aplicados sobre os insetos. Alguns compósitos foram utilizados depois de emulsionados em água, ou então simplesmente em soluções aquosas, no caso do compósito ser solúvel na água. Outros foram empregados apenas sob a forma de pó, por não possuímos no momento material suficiente.

Para os polvilhamentos, utilizamo-nos de um dispositivo construído com as características representadas na foto (Estampa 8, fig. A) e por meio do qual foi possível aplicar comparativamente quantidades determinadas das substancias em experiência. Os insetos — gafanhotos adultos, “mosquitos” (1.^a idade) e “saltões” (4.^a idade) — a serem polvilhados, eram colocados em número de 10 a 20 para cada teste na camara *b*, onde recebiam, sob a forma de nuvem de pó, as substancias colocadas em um pequeno funil de carga *a*, por meio de uma corrente de ar *d*, em quantidade de 0,5 gr ou 1 gr, em concentrações diversas. Depois da descarga total de pó, os insetos ainda permaneciam na camara por um tempo convencional de 10 minutos. Nas pulverizações foi empregado um pulverizador manual, por meio do qual era possível medir exatamente a quantidade de líquido a pulverizar, que foi de 10cc por teste. Os insetos a serem tratados eram encerrados em pequena gaiola de tela metálica, com as dimensões de 15x15x15 cm, de onde eram retirados logo após o tratamento. Os gafanhotos adultos, depois de terem sido tratados, eram transferidos para viveiros de tela, tendo como alimento farelo humedecido, ou folhas de couve, enquanto os saltões e “mosquitos” eram colocados em pequenos frascos de vidro com folhas de milho destacadas, para alimentação, as quais eram trocadas cada 24 horas.

Foram feitas observações depois de 24 e 48 horas de tratamento, e em alguns casos depois de 4 e 6 horas, sendo então realizada a contagem dos mortos, vivos e intoxicados. Nos ensaios de campo, nos utilizamos apenas das formas adultas do inseto, tendo sido empregadas caixas de 1,60 x 1,60 m (Estampa 8, fig. B, e estampa 9) com 30 cm de altura, e cobertas com tela metálica, cujas malhas, não permitindo a fuga dos insetos, também não interferissem demasiadamente nos tratamentos.

TABELA 3

Toxicidade de diferentes compostos químicos, sob a fôrma de polvilhamento, para o adulto de *Schistocerca cancellata* (Serv.)

COMPOSTO QUÍMICO E QUANTIDADE USADA	Diluição	N.º de insetos	Observação após		N.º de mortos após 48 horas	% de mortos após 48 horas
			4-5 hs.	24 hs.		
Hexacloro-ciclo-hexano (1) com 10 a 12% de isomero gamma 1 gr	5%	20	19i.	11i. 9m.	20	100,0
		20	15i. 5m.	2i. 18m.	20	100,0
	5%	19	aspéto normal	18i. 1m.	19	100,0
		20	—	3i. 17m.	20	100,0
	2,5%	16	—	11m. 5i.	16	100,0
	1,25%	15	—	11m. 2i.	13	86,6
	0,62%	15	—	6m. 9i.	11	73,3
Octa-Klor (4) C ₁₀ H ₆ Cl ₈ - 0,5 gr	10%	10	—	3v. 7i.	10	100,0
		16	—	15i. 1v.	16	100,0
	5%	10	—	10i.	10	100,0
		15	—	5m. 7i. 3v.	15	100,0
	1%	10	—	2i. 8v.	4	40,0
Toxapheno (3) (Campheno com 67-69% de cloro) 0,5 gr	20%	10	—	7i. 3m.	10	100,0
		14	—	4i. 10v.	12	85,7
	10%	10	—	8v. 2i.	2	20,0
		14	—	2i. 12v.	3	21,4
	5%	10	—	1m. 1i. 8v.	2	20,0

(continua)

(Continuação)

Bladan (2) ester do ac. tetra-fosforico 0,5 gr	0,5%	10	—	aspéto normal	0	0,0
	1%	10	—	aspéto normal	0	0,0
idem		15	—	1m. 14v.	1	6,6
idem	2%	10	—	4i. 6m.	10	100,0
		15	—	11i. 4m.	15	100,0
R.B. 1612 (2) (ester do ac. piro-fosforico 0,5 gr	0,5%	10	—	aspéto normal	0	0,0
	1%	15	—	1m. 14v.	1	6,6
	2%	10	—	8i. 2m.	9	90,0
		15	—	15i.	15	100,0
R.B. 1018 (2) tio-fosfato de dietila e para-nitro- fenila 0,5 gr	1%	10	—	10m.	10	100,0
	0,5%	10	—	10m.	10	100,0
		14	—	14i.	14	100,0
	0,25%	10	—	1v. 9i.	9	90,0
		15	—	12i. 3m.	15	100,0
	0,12%	10	—	10v.	4	40,0
idem		15	—	4i. 11v.	10	66,6
idem	0,060%	10	—	10v.	0	0
Testemunha	—	10	—	aspéto normal	0	0

NOTA: (1) — Material cedido pela Ind. Quim. Bras. "Duperial" S/A.

(2) — " " " Rhodia Brasileira S/A.

(3) — " " " Hercules Powder Company.

(4) — " " " Quimbrasil S/A.

m — mortos; v — vivos; i — intoxicados.

Em cada gaiola foram colocados 400 gafanhotos, fazendo-se observações depois de 24 e 48 horas. Nestes ensaios apenas empregamos o R.B.1018, Hexaclorocicloexana, e o Octaklor. As quantidades de pó e líquido empregados em cada tratamento foram em média de 80 gr e 300cc respectivamente. Entretanto nem todas essas quantidades foram utilizadas realmente, pois que boa parte do inseticida fica retida nos aparelhos de aplicação, dificultando, dessa maneira, a verificação exata da quantidade empregada. Com esta técnica, embora não fosse eliminada completamente a influência das correntes aéreas na ação dos inseticidas usados, principalmente do Hexaclorociclohexana e do Octaklor, bem estudada por DUSTAN, ARMSTRONG and PUTMAN, (3) os dados obtidos deverão aproximar-se bastante da realidade.

Na última contagem os que se mostravam tipicamente intoxicados, facilmente distinguíveis por não saltarem com a intensidade peculiar quando importunados, ou por se apresentarem com o par de patas posteriores anormalmente levantados, eram incluídos entre os mortos. Nos ensaios de laboratório os insetos adultos foram trazidos do sul do País e as formas jovens, que tiveram a mesma origem, ou foram transportadas nesses estádios ou nasceram em nossos insetários a partir de posturas de lá remetidas sob a forma natural, isto é, com ovos englobados em torrões. Queremos deixar consignados os nossos agradecimentos à Secção de Assistência Fitosanitária e à F. A. B., que nos enviaram todos os insetos utilizados nestas experiências.

RESULTADOS GERAIS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo acham-se resumidos nas tabelas 1 a 12. Com relação aos adultos e sob a forma de polvilhamento (tabs. 1 a 3), se tomarmos para comparação o tratamento feito com 0,5 gr de 3,5 dinitro-o-cresol a 10%, inseticida já extensivamente utilizado no contróle da praga em questão, veremos que os produtos que apresentaram maior atividade foram o "R.B.1018" e o "666", considerado para o último a porcentagem em isomero gama, que é a parte ativa do produto. Ambos, numa concentração de 0,25%, deram ótimos resultados. Entretanto, se levarmos em conta que o "666" mostra-se muito mais eficiente quando aplicado em ambientes confinados, dada a sua ação fumigante, como é o nosso caso, é de supôr que em condições práticas, ao ar livre, a porcentagem

TABELA 4

Toxicidade de diferentes compostos químicos sob a fôrma de pulverisação, para o adulto de *Schistocerca cancellata* (Serv.)

TRATAMENTO	Diluição	Número de insetos	Observação após		N.º de mortos após 48 horas	% de mortos após 48 horas
			4-5 hs.	24 hs.		
2,4 dinitro-o-fenol técnico 80%	3%	13	—	9m. 1i. 3v.	12	91,3
		10	—	9m. 1i.	10	100,0
idem	2%	20	—	23m. 1i. 4v.	25	89,2
		28	—	4v.	25	89,2
idem	1%	9	—	aspéto normal	4	44,4
Dinitro fenolato de sódio	5%	12	4v. 8m.	2v. 2i. 8m.	12	100,0
idem	3%	16	1v. 7i. 8m.	1i. 15m.	16	100,0
		12	1v. 1i. 10m.	1i. 11m.	11	91,6
idem	2,5%	20	2v. 2i. 16m.	1v. 19m.	19	95,0
		19	2v. 5i. 12m.	13m. 5i.	18	94,7
idem	1%	20	3v. 6i. 11m.	1v. 2i. 17m.	19	95,0
		25	—	10v. 2i. 13m.	17	68,0
Dinitro fenolato de Calcio	3%	9	2i. 7m.	9m.	9	—
idem	1%	14	—	4v. 3i. 7m.	10	71,4
DDT. em kerozene mais 5% de rotenona	5%	15	—	13v. 1i. 1m.	3	20,0
		10	—	aspéto normal	3	30,0
DDT. em kerozene	5%	20	—	aspéto normal	0	0,0
Kerozene	0	9	—	aspéto normal	3	33,3
Emulsão de C S ²	250 cc CS ₂ 20 gr. sabão 200 cc água	13	—	3m. 10v. 10v.	10	76,9
Testemunha	—	10	—	—	0	0,0

em isomero gama deverá ser maior. Em observações feitas com afideos da batatinha verificámos esse fato (8) e baseados nesses ensaios podemos dizer que esse aumento deverá ser aproximadamente de 4 vezes. Com o R.B.1018 tal diferença de atividade não foi observada (9), e nessas condições, enquanto com este inseticida se deverão obter, na prática, bons resultados em concentração da ordem de 0,25%, com o "666" será necessário, no mínimo, 1% isomero gama do hexacloriclohexana.

A seguir aparecem o "Bladan" e o R.B.1612, cujos resultados indicam uma boa atividade na concentração de 2%. Ambos foram utilizados logo depois de misturados com o kaolim, pois parece que se decompõem com certa rapidês quando misturados com pós inertes. Um pouco menos ativo, vem depois o Octaklor ou 1068, cuja concentração letal foi de 5%, vindo a seguir o 3,5 dinitro-o-cresol, o 2,4 dinitro-o-fenol e o 2,4 dinitro-cyclo-hexil-fenol, com bons resultados a 10%, podendo-se porém observar pequena superioridade do primeiro sobre os outros dois, e finalmente o Toxafeno, com ótima atividade a 20%. Outros compostos, como a difenilamina, o DDT, a azolitmina, evidenciaram alguma ação sobre os gafanhotos, porém muito fraca, e, finalmente, um terceiro grupo de substancias revelou atividade nula ou quase nula. Dos inseticidas de origem vegetal apenas as piretrinas, aplicadas sob a forma de flôr de piretro reduzidas a um pó bastante fino, é que deram resultados satisfatórios. Entretanto as diluições desse pó já não se mostraram muito eficientes, tendo sido observadas, nestes casos, a recuperação de um certo número de inséto. Quanto às pulverizações (Tab. 4 e 5) com o adulto, o mais ativo foi o R.B.1018 emulsionado na água, seguindo-se o isomero gama do Hexaclorobenzeno, também em emulsão depois o "Bladan" e o R.B.1612 em soluções aquosas, e finalmente as suspensões aquosas do 2,4 dinitro-o-fenol e as soluções de seus sais de sódio e calcio. As concentrações letais encontradas para esses inseticidas, na ordem citada, foram as seguintes: 0,01%, 0,08%, 0,2% e 3% para os três últimos. Entretanto é necessário considerar aqui, como foi feito nos ensaios de polvilhamento, a ação fumigante do gammexane em ambiente confinado.

O DDT, o bissulfureto de carbono emulsionado, e outros compostos não colocados na tabela, como o sulfato de nicotina, a rotenona e o albolineum, mostraram toxicidade muito baixa, tendo sido os melhores resultados obtidos, neste grupo de inseticidas, com as

TABELA 5

Toxicidade de diferentes compostos químicos sob a forma de pulverização, para o adulto de *Schistocerca cancellata* (Serv.)

TRATAMENTO	Diluição	Número de insetos	Observação após		N.º de mortos após 48 horas	% de mortos após 48 horas
			4-5 hs.	24 horas		
R.B. 1018 (Tio-fosfato de dietila e para nitro-fenila)	0,02%	15	—	13m. 2i.	15	100,0
		15	—	14i. 1m.	15	100,0
	0,01%	15	—	14m. 1v.	14	93,3
		15	—	2m. 1v. 12i.	15	100,0
	0,005%	20	—	16m. 1i. 3v.	17	85,0
		15	—	3i. 12v.	4	26,6
Bladan (ester do acido tetra fosforico)	0,2%	15	—	15m	15	100,0
		21	—	14m. 7i.	21	100,0
	0,1%	14	—	2m. 2i. 4v.	10	71,4
		21	—	2v. 6i. 13m.	19	90,4
	0,05%	16	—	2m. 1i. 13v.	3	18,7
R.B. 1612 (ester do ac. pirofosforico)	0,2%	13	—	13m.	13	100,0
		20	—	20i.	20	100,0
	0,1%	15	—	5m. 5i. 5v.	10	66,6
		20	—	9m. 8i. 3v.	18	90,0
	0,05%	15	—	1m. 1i. 13v.	2	13,3
Agrocide 3 (3% de Isomero gama)	0,08%	20	—	10m. 10i.	20	100,0
	0,04%	19	—	1m. 16i. 2v.	16	84,2
		16	—	3v. 13i.	13	87,5
	0,02%	21	—	1m. 2i. 18v.	3	14,2
		20	—	20v. 1m.	2	10,0
	0,01%	19	—	1m. 1i. 17v.	3	15,7
		15	—	5i. 10v.	2	13,3
Testemunha	—	10	—	10v.	0	0

NOTA: Fórmula usada: Alcool 10 cc, Acetona 13 cc, sulforicinato de sódio 1 cc, R.B. 1018 — 1 cc
m — morto; v — vivos; i — intoxicados.

emulsões de sabão e bissulfureto de carbono. Com relação aos saltões (4.^a idade) Tab. 6 a 8, com os quais apenas foram ensaiados os derivados nitrados que deram resultados positivos com o adulto, o “666”, o DDT, as piretrinas, a rotenona e as emulsões de querosene, os resultados obtidos tanto em polvilhamento como em pulverização não mostraram grande diferença na susceptibilidade desse estágio do inseto em comparação com o adulto. Apenas o “666” determinou 100% de mortalidade em uma concentração um pouco mais baixa do que a usada com o adulto. Queremos aqui destacar os resultados conseguidos com o dinitro-o-cresolato de amonio, os quais foram bastante superiores aos obtidos com o dinitro-fenolato de sódio, e finalmente a ótima eficiência observada com pulverizações de emulsão de sabão e querosene. Quanto ao “mosquitos” (1.^a idade), Tabs. 9 a 11, as diferenças em susceptibilidade foram enormes, e dignas da maior atenção. Assim é que, com os derivados nitrados que se mostraram ativos para os adultos, mortalidades de 90 a 100% foram observadas nas concentrações de 0,5 a 1%; com o “666”, levando-se em consideração o que foi dito quanto ao adulto, a concentração em isomero gama passou de 1% a 0,25%; mesmo o DDT mostrou ótima atividade a 10%; e finalmente o pó de flôr de piretro, diluído em talco a 9%, apresentou resultados excelentes. Quanto às pulverizações empregadas contra os “mosquitos”, além do dinitrofenolato de sódio, com o qual melhores resultados se obtêm adicionando 0,4% de sabão em pó, boa eficiência foi constatada também com solução de arsenito de sódio a 1% e com a emulsão de querosene. Também para este estágio do inseto o sulfato de nicotina e o albolineum, em elevadas concentrações, não se mostraram muito tóxicos. Nestes ensaios, em que foram utilizados os saltões na 4.^a idade e os “mosquitos”, não pudemos experimentar os outros inseticidas que se mostraram ativos para os adultos, por não os possuírmos na ocasião da realização dos testes.

Os ensaios de campo (Tab. 12) confirmaram em linhas gerais os resultados obtidos em laboratório, e acreditamos que poderá ser obtido, na prática, controle satisfatório do *Schistocerca cancellata* com polvilhamentos de R.B.1018 a 0,25%, Octaklor a 5% e Hexaclorociclohexana a 10% (1% de isomero gama). Pulverizações de R.B.1018 a 1/5.000, emulsionado em água, também deram ótimos resultados.

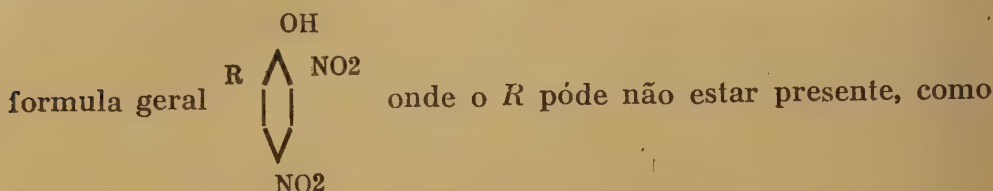
TABELA 6

Toxicidade de diferentes inseticidas, sob a forma de polvilhamento, para saltões (4.^a idade) de *Schistocerca cancellata* (Serv.)

INSETICIDA E QUANTIDADE USADA	Diluição	Número saltões	Observação após		N.º de mortos após 48 horas	% de mortos após 48 horas
			4-5 hs.	24 hs.		
DDT - 0,5 gr	10%	16	—	11v. 5i.	8	50,0
		21	—	16v. 4i.	6	28,5
	20%	20	—	5v. 6i. 9m.	18	90,0
	40%	19	—	9m.	18	94,7
Hexclorociclohexana 10-12% isomero gama - 0,5 gr	1%	22	—	22m.	22	100,0
idem	0,5%	27	—	24m. 3i.	27	100,0
idem	0,12%	19	—	15v. 4m.	5	26,3
idem	0,06%	20	—	13v. 2i. 5m.	7	35,0
Pó de piretro (1) 0,5 gr	0	22	—	21m. 1i.	22	100,0
idem	50%	21	—	5v. 6i. 10m.	14	66,6
idem	25,0%	23	—	15v. 2i. 6m.	10	43,3
idem	16,6%	23	—	17v. 3i. 3m.	8	34,7
Rotenona 0,5 gr	16%	24	—	22v. 2i.	4	16,6
idem	16%	26	—	16v. 5i. 5m.	11	42,3
Testemunha	—	25	—	—	2	8,0

NOTA: Produto sob a denominação comercial de Fly-Tox.
m — mortos. v — vivos; i — intoxicados.

Algumas observações, relacionando estrutura química e toxicidade para o gafanhoto, poderão ser feitas. Para os derivados nitrados, essas relações já foram publicadas pelo Prof. Q. MINGOIA (10), e podem ser assim resumidas: os mais ativos são os polinitrados da



é o caso do dinitro-o-fenol; *R*=grupo metílico, como no dinitro-o-cresol, ou *R*=ciclohexyl como no dinitrociclohexylfenol. A substituição da oxidril fenolica (cloro dinitro benzol), ou a inclusão de mais um radical — NO_2 na posição *R* (acido picrico) baixam sensivelmente a toxicidade. Dos mononitrados, o de posição “para” é o mais ativo. É interessante comparar esses resultados com os obtidos por F. TATTERSFIELD e outros, (12) em 1925, que estudaram a ação inseticida de numerosos cloro e nitro derivados do benzeno, do fenol e do naphtaleno, sobre o afídeo *Aphis rumicis*. Nesse trabalho, no capítulo onde esses autores discutem a atividade dos nitro-fenois e nitro-cresois sobre aquele inséto, dizem que tanto para os nitro-fenois como para nitro-cresois, a toxicidade em ordem decrescente é a seguinte: 2,4 dinitro-o-fenol e 3,5 dinitro-o-cresol “meta” e “para” nitro derivados orthonitro-derivado. Os trinitros se mostraram mais ou menos tão ativos quanto os mononitros-derivados. Aproximadamente, a mesma relação, portanto, encontrada com os adultos de *Schistocerca cancellata*. Alterações na molecula do DDT, como a substituição dos atomos de cloro em posição “para” pelo grupo methoxy $\text{CH}_3\text{-O}$, (dianisil tricloroetana), ou então a substituição da parte liposolúvel da molecula desse mesmo composto H-C-CCL_3 pelo radical S=O_2 (p.p’dicloro difenilsulfona ou S -(p. dinitro-difenil sulfeto) determinaram sensível redução na toxicidade. Seguindo a mesma ordem de idéias relatadas por LAÜGER e outros (7), que investigaram a possibilidade de serem encontrados novos inseticidas pela substituição desse grupo liposolúvel H-C-CCL_3 , por outros radicais, podemos fazer as seguintes considerações: 1) a substituição desse grupo pelo radical -NH- (difenilamina) não alterou muito a toxicidade; 2) a substituição desse grupo pelo fósforo

ligado ao oxigênio $O=P$ - (ésteres dos ácidos tetrafosfórico e pirofosfórico) determinou um aumento sensível da toxicidade, pois que ambos, na concentração de 2%, mostraram-se bastante ativos.

3) Essa substituição, feita pelo fósforo ligado ao enxofre $S=P$ - (ésteres do ácido tiofosfórico), melhorou consideravelmente as pro-

TABELA 7

Toxicidade de diferentes inseticidas, sob a forma de polvilhamento, para saltões (4.^a idade) de *Schistocerca cancellata* (Serv.)

INSETICIDA E QUANTIDADE USADA	Diluição	N.º de saltões	Observação após 24 hs.	N.º de mortos após 48 hs.	% de mortos após 48 hs.
2,4-dinitro-o-fenol (técnico 80%) - 1 gr	10%	16	16m.	16	100,0
0,5 gr	5%	23	17m. 2i. 4v.	17	73,9
idem	2,5%	21	9m. 12v.	9	42,8
3,5-dinitro-o-cresol 0,5 gr	2,5%	23	23m.	23	100,0
idem	1,5%	22	21m. 1v.	21	95,4
idem	1%	22	18m. 4v.	18	81,8
2,4-dinitro-o-cyclo hexil fenol 0,5 gr.	10%	22	22m.	22	100,0
idem	5%	21	19m. 2v.	19	90,4
idem	2,5%	21	12m. 9v.	12	57,1
Testemunha	—	23	—	0	0,0

NOTA: m — mortos; v — vivos; i — intoxicados.

priedades tóxicas contra o inseto em estudo, pois que nas concentrações de 0,25% determinou porcentagem de mortalidade equivalente aos outros.

Com relação às propriedades fitotóxicas, em testes realizados com plantas de fumo, couve, tomate, milho, alface, algodão, laranja e café, empregando os produtos com possibilidades de serem

TABELA 8

Toxicidade de diferentes inseticidas, sob a fórmula de pulverização, para saltões (4.^a idade) de *Schistocerca cancellata* (Serv.)

INSETICIDA	Diluição	N.º de saltões	Observação após 48 hs.	N.º de mortos após 24 hs.	% de mortos após 48 hs.
2,4-dinitro-o-fenol	3%	21	21m.	21	100,0
		23	23m.	23	100,0
idem	2%	16	14m. 1v. 1i.	15	93,7
		18	18m.	18	100,0
idem	1%	21	9m. 2i. 10v.	14	66,6
dinitro fenolato de sódio	3%	21	9v 12m.	19m.	90,4
dinitro cresolato de amônio	0,25%	20	20m.	20	100,0
idem		21	21m.	21	100,0
idem	0,125%	24	22m. 1i. 1v.	23	95,8
A.K. 50 (50% de D.D.T.)	5%	20	11v. 5i. 4m.	13	65,0
idem	7%	20	5v. 10i. 5m.	15	75,0
idem	10%	30	18v. 8i. 4m.	26	86,0
D.D.T. emulsionável (30%)	10%	34	4v. 4i. 26m.	31	91,1
Albolineum (1)	7%	20	10v. 2i. 8m.	11	55,0
Emulsão, sabão e kerozene	5cc kerozene. 1gr sabão 20cc água	27	1v. 26m.	27	100,0
Testemunha	—	23	—	0	0,0
	—	—	—	0	—

NOTA: 1) óleos emulsionáveis.

m — mortos; v — vivos; i — intoxicados.

TABELA 9

Toxicidade de diferentes inseticidas, sob a fórmula de polvilhamento, para "mosquitos" (1.^a idade) de *Schistocerca cancellata* (Serv.)

INSETICIDA E QUANTIDADE USADA	Diluição	N.º de mosquitos	Observação após 24 hs.	N.º de mortos após 24 hs.	% de mortos após 48 hs.
(1)	0	27	27m.	27	100,0
Pó de piretro:					
(1 gr)	25%	26	26m.	26	100,0
idem (0,5 gr)	9%	28	28m.	28	100,0
	9%	26	26m.	26	100,0
	6,2%	29	4v. 3i. 22m.	25	86,2
	3,1%	26	7v. 4i. 15m.	22	84,6
Rotenona (1 gr)	16%	24	1v. 5i. 18m.	24	100,0
Rotenona (0,5 gr)	16%	19	5v. 8i. 6m.	15	84,2
	8%	20	6v. 7i. 7m.	15	75,0
Testemunha	—	25	24v. 1m.	3	12,0

NOTA: 1) Produto sob a denominação comercial de Fly-Tox.

m — mortos; v — vivos; i — intoxicados.

TABELA 10

Toxicidade de diferentes inseticidas, sob a forma de polvilhamento, para "mosquitos" (1.^a idade) de *Schistocerca cancellata* (Serv.)

INSETICIDA E QUANTIDADE USADA	Diluição	Número de mosquitos	Observação após 24 hs.	N.º de mortos após 48 hs.	% de mortos após 48 hs.
2,4-dinitro-o-fenol 0,5 gr	2,5%	26	24m. 2v.	26	100,0
idem	1%	19	7m. 1i. 1v.	19	100,0
idem	0,5%	21	13m. 1i. 7v.	17	80,9
3,5-dinitro-o-cresol 0,5 gr	0,5%	26	25m. 1i.	26	100,0
idem	0,25%	27	25m. 2v.	26	96,2
idem	0,062%	23	3m. 2i. 18v.	10	43,4
2,4-dinitro-o-cyclo hexil-fenol 0,5 gr	0,5%	29	29m.	29	100,0
idem	1%	25	15m. 4i. 6v.	23	92,0
Hexaclorociclohe- xana (10 a 12% isomero gamma) 0,5 grs	0,25%	24	24m.	24	100,0
	0,12%	26	26m.	26	100,0
idem	0,062%	31	31m.	31	100,0
idem	0,031%	21	9v. 9i. 3m.	16	76,1
idem	0,015%	23	9v. 3i. 11m.	17	73,9
DDT 0,5 gr	3%	26	10v. 4i. 12m.	22	84,6
	5%	22	5v. 3i. 14m.	19	86,3
	10%	31	30m. 1i.	31	100,0
Testemunha	—	26	—	24v. 2m.	7,6

NOTA: m — mortos; v — vivos. i — intoxicados.

TABELA 11

Toxicidade de diferentes inseticidas, sob a fórmula de pulverização, para
"mosquitos" (1.^a idade) de *Schistocerca Cancellata* (Serv.)

INSETICIDA	Diluição	Número de mosquitos	Observação após 48 hs.	N.º de mortos após 48 hs.	% de mortos após 48 hs.
2,4-dinitro-o-fenol	1%	30	30m.	30	100,0
		28	28m.	28	100,0
idem	0,5%	25	25m.	25	100,0
		23	19m. 4v.	21	91,3
idem	0,2%	24	20v. 4m.	4	16,6
dinitro fenolato de sódio	1%	20	8v. 12m.	12	60,0
		19	11v. 1i. 8m.	9	47,3
idem	2%	25	4v. 1i. 20m.	21	84,3
		25	13v. 12m.	12	48,8
idem	3%	23	11v. 12m.	14	60,8
dinitro fenolato de sódio 0,4% de sabão	1%	12	8v. 4m.	5	41,6
	2%	27	1v. 26m.	27	100,0
	3%	24	24m.	24	100,0
Sabão	0,4%	26	13v 3i. 10m.	13	50,0
Arseniato de sódio	1%	22	3v. 2i. 17m.	22	100,0
Sulfato de nicotina 0,4% sabão	1%	20	7v. 8i. 5m.	16	80,0
	0,5%	19	7v. 3i. 9m.	14	73,6
Albolineum	5%	24	16v. 8m.	11	45,8
Emulsão de sabão e querosene	5cc de querosene 1 gr de sabão 20cc de água	26	22m. 4v.	25	96,1
DDT emulsionavel (30%)	3%	22	22m.	22	100,0
	1%	21	3v. 10i. 7m.	19	90,4
	0,5%	22	4v. 18m.	19	86,3
Querosene	—	30	29m. 1v.	29	96,6
A.K. 50 (50%)	3%	19	2v. 4i. 13m.	18	94,7
	1%	23	7v. 7i. 9m.	21	91,3
Testemunha	—	42	5m. 37v.	6	14,2

NOTA: m — mortos; v — vivos. i — intoxicados.

TABELA 12

Resultado da aplicação de diversos inseticidas contra o adulto de *Schistocerca cancellata* (Serv.) ensaios realizados no Rio Grande do Sul

P R O D U T O		OBSERVAÇÃO APÓS 24 hs.				OBSERVAÇÃO APÓS 48 hs.			
		vivos	mortos	intox.	% mortal.	vivos	mortos	intox.	% mortal.
R.B. 1018 em kaolim 0,5%	400	0	400	0	100%	—	—	—	—
R.B. 1018 em kaolim 0,25%	400	0	389	11	100%	0	394	6	100%
R.B. 1018 em kaolim 0,16%	400	0	386	14	100%	0	398	2	100%
Hexiclan - 1,3% isomero gamma (nacional)	400	0	296	4	100%	0	400	0	100%
Octachlor 2,5%	400	—	—	—	—	6	320	74	98,5%
Octachlor 5%	400	—	—	—	—	0	396	4	100%
Gammexane 1,3 isomero gamma (Inglez)	400	0	400	0	100%	—	—	—	—
Gammexane 0,625% do isomero gamma (Inglez)	400	—	—	—	—	—	398	2	100%
R.B. 1018 emulsão alcool-acetona 1/5.000	400	—	—	—	—	14	371	15	96,5%
R.B. 1018 emulsão alcool-acetona 1/10.000	400	—	—	—	—	35	349	16	91,2%
R.B. 1018 emulsão alcool-acetona 1/20.000	400	—	—	—	—	68	310	22	83%
R.B. 1018 emulsão goma adragante 1/5.000	400	—	—	—	—	22	357	21	94,5%
Testemunha	400	—	—	—	—	349	51	0	12,7%

usados no contrôlê do gafanhoto e aplicados nas concentrações utilizadas com esse objetivo, os mais ativos foram os derivados nitrados e ligeiramente menos causticos os sais de sódio e calcio do 2,4 dinitro-o-fenol. As mais prejudicadas foram as plantas de batatinha, alface e tomate, mostrando-se um pouco mais resistente, com relação apenas aos sais de sódio e calcio, o algodão, a laranja, o cafeeiro e o milho, porém também afetados. Com os outros compostos, nas mesmas condições, apenas o Bladan e o R.B.1612, em solução aquosa a 1/500, é que determinaram queimaduras em plantas de tomate.

Resumindo: os diferentes compostos experimentados com possibilidades de serem empregados no contrôlê do gafanhoto migratório sul-americano *Schistocerca cancellata* (SERV.), sob a forma de polvilhamento, poderão ser classificados segundo a sua atividade e na ordem decrescente, da seguinte maneira: — R.B.1018 (0,25%) — isomero gama do $C_6H_6Cl_6$ (1%) — Bladan (2%) — R.B.1612 (2%) — Octaklor (5%) — 3,5 dinitro-o-cresol, 2,4 dinitro-o-fenol e 2,4 dinitro-o-ciclohexylfenol (10%) e Toxafeno (20%). Desses compostos o Bladan e o R.B.1612 apresentam o inconveniente de se decomporem com relativa rapidês quando misturados a pó inertes, e os derivados nitrados por serem fitotóxicos. Com relação ao restante, o seu emprêgo estará condicionado à sua toxicidade quanto aos mamiferos.

Deste ponto de vista, dos derivados clorados parece que o gam-mexane e o Octaklor são menos tóxicos, enquanto o toxafeno requer certos cuidados. Quanto ao R.B.1018, em ensaios preliminares, em que coelhos e cobaias foram alimentados diariamente com rações verdes polvilhadas com o produto na concentração indicada, durante 30 dias, não notamos, aparentemente, efeito algum nesses animais. Entretanto o exame interno revelou lesões macroscópicas nos pulmões, que tendem a desaparecer uma vez suspensa a administração do tóxico. Observações mais detalhadas quanto a este ponto são necessárias.

EXPERIMENTS ON THE CHEMICAL CONTROL OF THE SOUTH AMERICAN
MIGRATORY LOCUST "*SCHISTOCERCA CANCELLATA* SERV."

A b s t r a c t

In this paper the results of experiments with a number of chemicals, including recently developed insecticides, against the South

American Migratory Locust, *Schistocerca cancellata* Serv., are reported.

Most of the tests were made under laboratory conditions; for dusting a special apparatus was used which permitted the use of known quantities of dusts at various concentrations, the powders being blown in clouds on the insects placed under a dumb-bell; for sprayings a hand-operated sprayer was used which also permitted the application of an exact amount of insecticide on the adult insects held in a small cage.

The insecticides which proved more active, in the laboratory, were also tried in the field, the adult locusts being kept in big cages and the insecticides applied by means of hand operated dusters or sprayers.

The following is the decreasing order of efficiency of the various insecticides:

A) — *D u s t i n g* : R.B. 1018 — diethyl para nitrophenyl thiophosphate (0.25%); gamma isomer of the benzene hexachloride (1%); Bladan and R.B. 1612 — respectively esters of the tetraphosphoric and of the pyrophosphoric acids (2%); Octaklor — chlorinated derivative referred to under the names Velsicol, 1068, and chlordane (5%); 3,5 dinitro-o-cresol, 2,4 dinitro-o-phenol and 2,4 dinitro-o-cyclohexylphenol (10%); and toxaphene — a chlorinated bicyclic terpene with 67-69% chlorine (20%).

Of those insecticides, Bladan and R.B. 1018 have the disadvantage of decomposing quickly when mixed with inert powders; the nitro derivatives are toxic to the plants.

B) — *S p r a y i n g* : R.B. 1018 — (Emulsion at 0.02%); gamma isomer of the benzene hexachloride (Emulsion at 0.4%); Bladan and R. B. 1612 (Solution at 0.2%).

Aqueous suspensions of 2,4 dinitro-o-phenol and solutions of their sodium and calcium salts are active at comparatively high concentrations, i. e. 3 percent. The authors believe that this is due to the rather large size of the particles of 2,4 dinitro-o-phenol and to the lack of use of a spreader in the solutions of the salts.

First and fourth stage nymphs of the locust were also submitted to tests, their sensitiveness was always higher than that of the adults.

Some observations on the relations between the chemical structure and toxicity to *S. cancellata* were analysed.

As regards the toxicity to plants we observed that for tobacco, cabbage, tomato, corn, lettuce, cotton, orange and coffee the nitro derivatives are most active when employed in the same concentrations as used against insects. Of the phosphorus derivatives, Bladan and R.B. 1612 caused some burning on tomato and lettuce which did not occur with the chlorine derivatives.

In tests of the toxicity of R.B. 1018 for mammals, the green food of guinea-pigs and rabbits was dusted with this product at a concentration of 0.25 percent; no effect was noted on the animals, in particular there was no lowering of the weight. The internal examination however showed macroscopic lesions in the lungs — as already mentioned in a previous paper. These lesions disappeared when the administration of the chemical was interrupted.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — ANÓNIMO — 1946 — Ministério de Agricultura de la Nacion. Instrucciones sobre la langosta. Direccion de informaciones, Buenos Aires. Publ. N.º 205, 120 pags.
- 2 — DECKER, G. C. and C. DRAKE — 1941 — Preliminary studies on the use of dinitro-o-cresol dusts in grasshopper control. *Iowa State Coll. J. Sci.* 14 : 245-251 — ref. do C. A., 32, 1941.
- 3 — DUSTAN, ARMSTRONG and PUTMANN — The influence of Air Currents on the Insecticidal action of DDT, Benzene Hexachloride, Hercules Toxicant 3956, and Velsicol 1068. *The Canadian Entomologist*. 79 (3): 41-60.
- 4 — GOYTIA, A. y P. KÖHLER — 1944 — La langosta migratoria y su destruccion en la Republica Argentina — 70 pp. — *Publ. del comite permanente de la segunda conferencia interamericana de Agricultura* — Mexico, D. F.
- 5 — HILL, R. E. and E. HIXSON — 1947 — Hexachlorocyclohexana dusts and Fogs to control grasshoppers. *J. Econ. Ent.*, 40 : 137-138.
- 6 — HINMAN E. J. and F. T. COWAN — 1947 — New insecticides in Grasshopper control — *United States Department of Agriculture* — Division of Cereal and Forage Insect Investigations, E-722, 21 pags.
- 7 — LAÜGER P., H. MARTIN y P. MÜLLER — 1944 — Sobre la constitución y acción tóxica de los modernos insecticidas sintéticos y naturales. Trad. de J. R. Geigy S. A., Basilea, do original alemão em *Helvetica Chimica Acta*, 27: 892-928.
- 8 — LEPAGE, H. S., O. GIANNOTTI e A. ORLANDO — 1946 — Observações relativas à atividade de diversos inseticidas sobre os afídeos "*Macrosiphum solanifolii* Ashm." e "*Myzus persicae* Sulz" — *O Biológico*, São Paulo, 12: 228-235.

- 9 — LEPAGE, H. S., O. GIANNOTTI e A. ORLANDO — 1947 — R. B. 1018 — Um novo inseticida. — *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, 18: 1-30.
- 10 — MINGOIA, Q. — 1947 — Contribuição à luta anti-acridica — *Rev. de Química e Farmácia do Rio de Janeiro*. 12: n.º 4.
- 11 — NOLTE, M. C. A. — 1941 — Dinitro-o-cresol and other insecticides as locust e poisons: Experiments of 1938-39 — *Union S. Africa Dept. Agr. Forestry. Sci. Bull.* n.º 232, 55 pp. — ref. do C. A. 36, 36178 — 1942.
- 12 — TATTERSFIELD, F., C. T. GIMINGHAN and H. M. MORRIS — 1925 — Studies on contact insecticide — Part. III. A quantitative examination of the insecticidal action of the chlor-nitro and hydroxyd derivatives of benzene and naphthalene. *Ann. Appl. Biol.*, 12: 218-262.
- 13 — TRELLES, C. A. L. — 1940 — La Lucha moderna contra la langosta en el país. — *Acad. Nac. de Agric. y Veterinaria*, Buenos Aires, n.º 5, 51. pp.

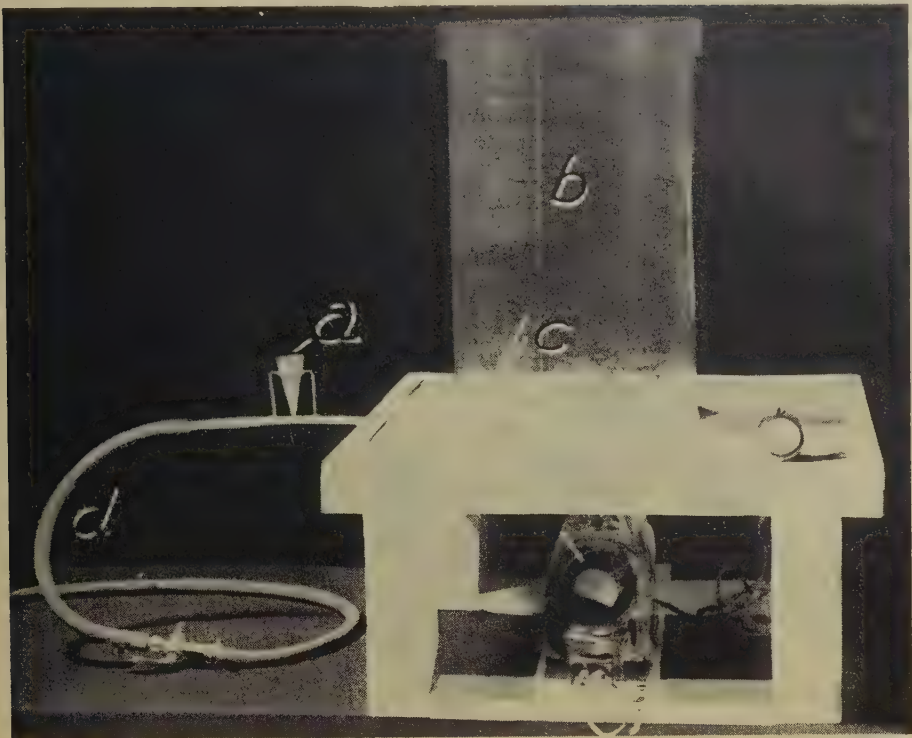
EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Estampa 8

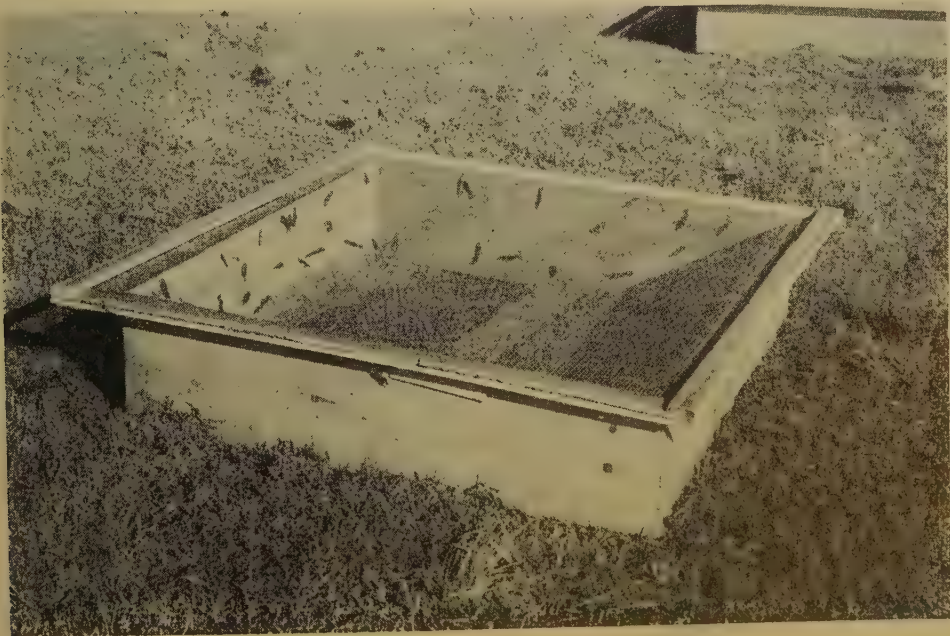
- Fig. A — Dispostivo utilizado nos polvilhamentos: *a* — Funil de carga. *b* — Câmara onde são colocados os insetos. *c* — Bico de polvilhamento. *d* — Linha de ar comprimido.
- Fig. B — Caixa montada podendo-se ver no seu interior os gafanhotos adultos.

Estampa 9

- Figs. C e D — Vistas gerais das caixas utilizadas nos ensaios de campo.
-



A



B



C



D

VACINA CONTRA A PESTE SUINA

TÉCNICA DE PREPARO. FATORES QUE INTERFEREM NA SUA EFICIÊNCIA. IMUNIZAÇÃO POR VIA INTRADÉRMICA.

POR

R. Cury, A. M. Penha e M. D'Apice

Do Instituto Biológico de S. Paulo

SUMÁRIO

- 1 - Introdução
- 2 - Fórmulas atuais da vacina
- 3 - Suínos destinados ao preparo da vacina
- 4 - O vírus de peste suína
- 5 - Inoculação do vírus
- 6 - Controle termométrico
- 7 - Sacrifício dos suínos
- 8 - Necrópsia
- 9 - Preparo da vacina de cristal violeta
- 10 - Concentração da vacina
- 11 - Permanência da vacina na estufa
- 12 - Estada fóra da estufa
- 13 - Provas da vacina:
 - a) esterilidade
 - b) inocuidade
 - c) proteção
- 14 - Parte final
 - a) modificação atual da prova de proteção com a introdução da via intradérmica
 - b) técnica de aplicação por via intradérmica
 - c) prova de proteção atualmente em uso
- 15 - Conclusões

No estado atual de nossos conhecimentos quanto à proteção contra a peste suína, a vacina de cristal violeta, convenientemente preparada, constitui sem dúvida um produto eficiente, econômico e prático.

O processo de imunização com o soro e vírus é mais trabalhoso, menos econômico e exige prática de quem o emprega, sendo sujeito a vários acidentes, que tornam sua aplicação muito restrita pelos leigos.

DORSET, estudando e ensaiando, durante muitos anos, a ação de dezenas de produtos sobre o vírus da peste, verificou que o cristal violeta, acrescentado ao sangue virulento em proporções adequadas e levados ambos à estufa a 37°C, durante tempo determinado, constitui uma excelente vacina contra a peste dos porcos.

Os trabalhos de DORSET foram continuados por MC BRYDE e COLE, que publicaram em 1936 (8) detalhes do preparo da vacina de cristal violeta com sangue virulento.

BOYNTON, em 1933 (1), já tinha constatado que era possível a obtenção de vacina contra a Peste, usando polpa de certos órgãos de suínos, tratados pelo eucaliptol.

Em meados de 1939 surgiu, nos arredores de São Paulo, uma epizootia grave de Peste, que posteriormente se estendeu aos municípios vizinhos, ameaçando várias zonas de criação intensa de suínos.

Ao Instituto Biológico coube a tarefa de combater a moléstia. Embora PENHA, em trabalho publicado em 1934 (9), já tivesse observado alguns casos de peste suína, devidamente comprovados, e conseguido a obtenção de soro hiperimune, o Instituto Biológico achava-se sem aparelhamento, porquanto, não tendo aparecido novos casos, não houvera necessidade de produção de soro em grande escala.

Foi providenciada de início a vinda de soro do Laboratório "Fuerte Sancti Spiritu", da Rep. Argentina, enquanto se faziam preparativos para a produção intensiva de soro hiperimune, o que posteriormente foi conseguido.

Ambos, soro nacional e argentino, foram empregados na prática, obedecendo ao seguinte critério:

- a) soro nos suínos doentes;
- b) soro e virus nos animais sadios.

O valor relativo do soro, curando apenas os suínos no início da moléstia, e os acidentes ocorridos nos processos de imunização por soro e virus, fizeram pensar na possibilidade de melhor método de proteção.

PENHA, em 1940 (10) obtém uma vacina com polpa de baço tratada pelo cristal violeta.

PENHA e D'APICE (11), em 1942, conseguem uma vacina mista de sangue, baço e gânglios.

As formulas de PENHA, PENHA e D'APICE, publicados em 1940 e 1942, são hoje empregadas na prática corrente de fabricação da vacina pelo Instituto Biológico e já adotadas por vários laboratórios nacionais e estrangeiros. As fórmulas atuais obedecem aos processos originais de PENHA, PENHA e D'APICE, tendo apenas sofrido pequenas modificações na proporção dos vários elementos da vacina:

a) — vacina de sangue

sangue desfibrinado virulento	1.000
glicerina	250
água destilada fenicada a 1,5%	100
solução aquosa de cristal violeta a 0,5% ...	150
	1.500 cm ³

b) — vacina de órgãos

polpa fina de baço e gânglios virulentos ..	100
água destilada fenicada a 0,75%	200
solução aquosa de cristal violeta a 0,5% ..	30
	330 cm ³

As vacinas *a* e *b*, obtidas de um lote de suínos, são misturadas quando se faz a prova de proteção em suínos e assim embaladas nos frascos para a distribuição.

A partir de 1942, quando passamos a empregar a vacina mista de sangue e órgãos, as partidas foram designadas por dois números, um para o sangue e outro para os órgãos.

As várias fases da obtenção de uma partida de vacina cristal violeta, enumeradas de um modo geral, mostram tratar-se de um produto cujo preparo nada oferece de difícil:

- 1) — inocular um lote de suínos sensíveis com 2cm³ de virus cada um, por via intramuscular;
- 2) — fazer o controle termométrico desses suínos e sacrificá-los ao fim de 7 dias completos;
- 3) — o sangue é colhido estérilmente, distribuído em balões e com êle feita a vacina conforme fórmula já mencionada; o baço e os gânglios são colhidos assepticamente, depois triturados e com êles feita a vacina conforme já foi mencionado;
- 4) — a vacina é mantida em estufa a 37°C, durante 14 dias;
- 5) — retirada da estufa, colhe-se amostra de todos os balões e fazem-se as seguintes provas:
 - a) — de esterilidade — em meios de cultura;
 - b) — de inocuidade — em cobaias;
 - c) — de proteção — em suínos.

Sendo satisfatórias todas as provas, é feita a distribuição.

E' o seguinte, em média, o tempo necessário para o preparo de uma partida de vacina:

inoculação, necrópsia e preparo da vacina	8 dias
permanência na estufa	14 "
esterilidade: prova de meios de cultura	3 "
inocuidade: prova de cobaias	10 "
proteção { prova de porcos (vacina)	21 "
{ prova de porcos (virus)	21 "
Total	77 dias

Este trabalho refere-se às observações efetuadas em 400 partidas preparadas e controladas, no Instituto Biológico, de Janeiro de 1940 a Julho de 1947. Trabalharam em várias épocas na obtenção da vacina os Drs. A. M. PENHA, M. D'APICE, J. FERRAZ DE OLIVEIRA, J. CORRÊIA DE FREITAS e R. CURY.

No início de 1946 verificou-se o aparecimento de várias causas que prejudicaram algumas partidas do produto.

As partidas falhas foram inutilizadas, o que ocasionou, além de prejuízos econômicos, sérios inconvenientes, pois que a peste alastrava-se pelo Estado de São Paulo e a necessidade de vacina para os criadores tornava-se cada vez maior.

Não se podia responsabilizar a parte técnica do preparo da vacina, pois que pela mesma técnica algumas centenas de partidas foram obtidas e usadas na prática, com ótimos resultados.

Urgia pesquisar as causas de falha, procurando assim evitar que se repetissem, e essa urgência subordinava-se aos seguintes fatores:

a) — infelizmente apenas uma pequena porcentagem de laboratórios nacionais produz vacinas eficientes contra a peste dos porcos;

b) — a peste suína assumiu, desde fins de 1945, um aspecto panzoótico, assolando principalmente as criações de São Paulo, Paraná e Minas Gerais;

c) — a única forma possível de combater eficazmente a peste no nosso sistema de criação consiste na vacinação;

d) — uma partida de vacina, que falha, não representa apenas umas poucas mil doses jogadas fóra e sim uns poucos mil porcos que deixam de ser salvos da peste.

Outro aspecto da importância do problema verifica-se na análise das vacinas obtidas em 1946, pelo Instituto Biológico.

Fabricamos nesse ano 58 partidas de vacina, num total de 209.033 doses.

Não puderam ser usadas 12 partidas, por terem falhado totalmente nas provas; representavam 25.310 dóses.

Compreendendo a importância desse fato, logo de início tratou-se da resolução do problema.

Para esclarecimento do assunto, fizemos uma revisão completa de todas as partidas até então preparadas e efetuamos algumas experimentações complementares.

Atualmente podemos afirmar, com satisfação, que tôdas as causas possíveis de falha, nas várias fases do preparo da vacina, estão perfeitamente esclarecidas e afastadas.

As observações, feitas em muitos milhares de animais em São Paulo (Brasil) e que atualmente já atingem mais de 800.000 suínos vacinados, revelam a absoluta eficiência da vacina, quando convenientemente preparada e aplicada.

Acontece, porém, que a aplicação de vacinas preparadas sem os cuidados que nossa experiência mostrou necessários tem sido causa de lamentáveis fracassos, o que, além dos sérios prejuízos econômicos que acarreta, pôde fazer recair na vacinação contra a peste porcina injustificável desconfiança. Esses fatos justificam, pois, a publicação das observações que têm sido feitas durante os nossos trabalhos, no Instituto Biológico de São Paulo.

Analisaremos as causas das falhas e as condições necessárias para melhor obtenção da vacina, considerando em separado cada fase do seu preparo.

PORCOS

Os porcos destinados ao fabrico de vacina devem apresentar certas características.

O porco deve ser enxuto; nome comumente dado ao suíno desenvolvido, mas ainda isento de abundante tecido adiposo. Compreende-se que, interessando no porco principalmente o sangue, o tecido adiposo entra como peso morto na compra.

O porco deve ser sadio, porquanto feita a necrópsia após a inoculação de vírus, devem ser eliminados os animais que apresentarem lesões de moléstias que possam afetar o sangue e os órgãos de interêsse na vacina.

E' preferível que o animal seja novo. Na nossa prática corrente de fabrico da vacina, achamos geralmente maior sensibilidade nos suínos novos. Com o nome suíno novo denominamos aqui os porcos desde a desmama até a maturação sexual.

O peso ideal do porco para a vacina está subordinada aos fatores: raça e fase de desenvolvimento.

Procurando obter dados concretos a êste respeito, fizemos uma análise da raça e fase de desenvolvimento de 828 suínos. Considerando a quantidade de sangue total fornecida para o preparo de vacinas, e o peso bruto dos porcos, em quilogramas, estabelecemos a relação: um litro de sangue — peso bruto de porco necessário à produção dêsse litro (tabela 1).

TABELA 1

N.º de suínos da relação	RAÇA	PESO BRUTO DOS SUÍNOS							
		15 a 20 kg	21 a 25 kg	26 a 30 kg	31 a 35 kg	36 a 40 kg	41 a 45 kg	46 a 50 kg	51 a 55 kg
175	Deutsches Edelschwein	$\frac{1}{22,7}$	$\frac{1}{23,4}$	$\frac{1}{24,0}$	$\frac{1}{24,4}$	$\frac{1}{26,8}$	$\frac{1}{27,8}$	$\frac{1}{27,5}$	$\frac{1}{29,8}$
195	Duroc- Jersey	$\frac{1}{25,4}$	$\frac{1}{26,4}$	$\frac{1}{28,2}$	$\frac{1}{27,2}$	$\frac{1}{28,9}$	$\frac{1}{29,1}$	$\frac{1}{26,6}$	$\frac{1}{32,3}$
116	Hampshire	$\frac{1}{24,8}$	$\frac{1}{25,1}$	$\frac{1}{25,2}$	$\frac{1}{26,6}$	$\frac{1}{25,7}$			
44	Piau	$\frac{1}{28,6}$	$\frac{1}{25,8}$	$\frac{1}{23,3}$	$\frac{1}{33,2}$	$\frac{1}{31,0}$			
90	Mestiços Duroc-Piau	$\frac{1}{27,9}$	$\frac{1}{26,5}$	$\frac{1}{27,7}$	$\frac{1}{28,6}$	$\frac{1}{27,6}$			
16	Mestiços Duroc-Poland ...	$\frac{1}{25,1}$	$\frac{1}{25,7}$	$\frac{1}{27,7}$					
27	Mestiços Edel-Hampshire ...	$\frac{1}{22,5}$	$\frac{1}{24,3}$	$\frac{1}{25,6}$	$\frac{1}{22,1}$				
81	Comum - tipo São Paulo ...	$\frac{1}{21,8}$	$\frac{1}{25,4}$	$\frac{1}{25,1}$	$\frac{1}{25,6}$	$\frac{1}{27,6}$	$\frac{1}{29,6}$	$\frac{1}{30,6}$	$\frac{1}{32,4}$
84	Comum - tipo Paraná ...	$\frac{1}{26,4}$	$\frac{1}{27,0}$	$\frac{1}{27,4}$	$\frac{1}{30,0}$	$\frac{1}{36,3}$	$\frac{1}{32,0}$	$\frac{1}{33,7}$	$\frac{1}{37,0}$
828									

Verifica-se que há variações de rendimento de sangue em relação à raça e que dentro de cada raça há oscilações, conforme a fase do desenvolvimento, expressa de um modo geral em peso.

Esses dados precisam ser considerados quando se deseja fazer compra de porcos.

Um fator de suma importância, que procuraremos analisar de modo mais detalhado, consiste no uso de porcos sensíveis à peste para o preparo de vacina.

Não servem para esse fim porcos que tenham sido injetados com qualquer tipo de vacina contra a peste.

A análise de algumas partidas de vacina feitas no Instituto Biológico esclarecerão este ponto.

Partida n.º 308-309: Foram empregados 36 porcos, de raça comum, procedentes de uma criação do interior do Estado.

Inoculação de vírus:

18 suínos inoculados em 25/6/1946 — Pocilgas 49 e 50

18 suínos inoculados em 26/6/1946 — Pocilgas 47 e 48

No dia do sacrifício para o preparo de vacina apresentavam esses lotes as seguintes médias termométricas (gráficos 1 e 2):

GRÁFICO 1

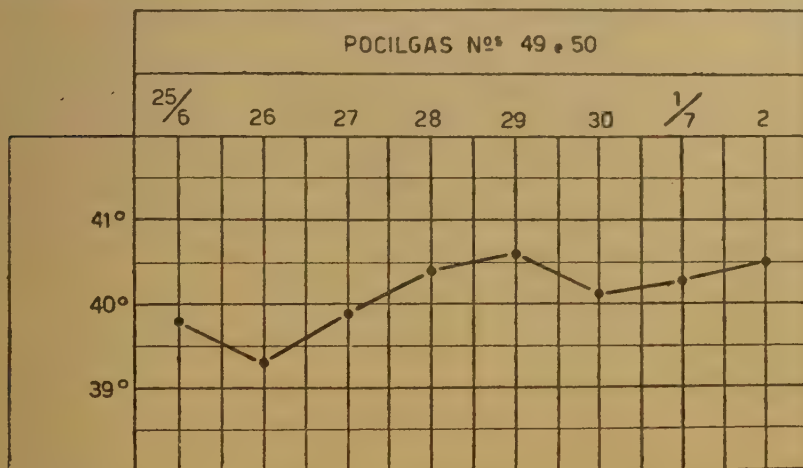
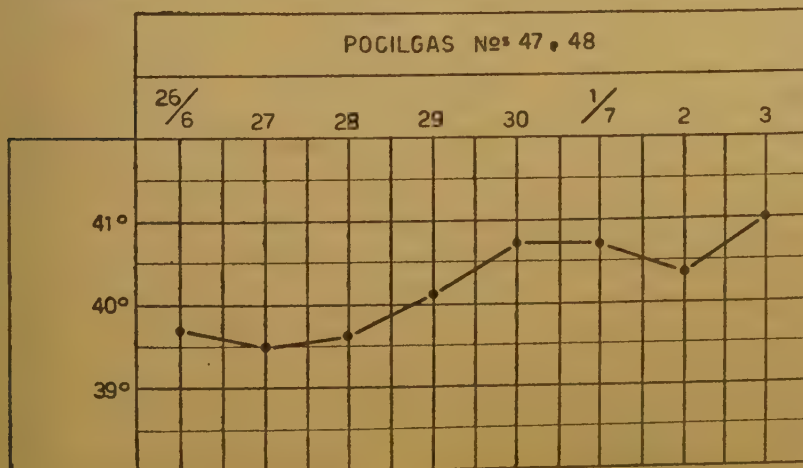


GRÁFICO 2



Essas médias, embora não muito altas, foram consideradas satisfatórias, porquanto segundo observações de PENHA e D'APICE, uma das características dos porcos produtores de boa vacina é apresentarem temperaturas acima de 40°C nos três últimos dias antes do sacrifício.

Este requisito foi preenchido, como provam, além da média, as temperaturas individuais de 5 suínos escolhidos ao acaso destas po-cilgas (tabela 2):

TABELA 2

	25/6	26	27	28	29	30	1/7	2	3
3-47		39,3	39,0	39,3	40,6	40,9	41,1	40,7	41,0
5-49	39,7	39,2	39,5	40,0	41,4	40,8	41,5	41,3	
9-49	39,0	39,3	40,2	40,9	41,3	40,5	41,5	41,2	
3-50	39,2	38,8	40,3	40,8	41,6	40,6	40,3	41,7	
9-50	39,6	39,2	39,6	40,6	41,0	40,8	40,0	40,3	

Todavia 5 suínos do lote foram rejeitados, por não apresentarem uma curva febril adequada, após inoculação do vírus (tabela 3):

Dois fatos anormais já se apresentavam nesta partida, findo o controle termométrico:

- 1) — as médias termométricas, embora razoáveis, como já mencionámos, não correspondiam à potência de nossas amostras de vírus;
- 2) — a existência de 5 suínos que não apresentaram curva térmica satisfatória num lote de 36; ou seja 13,9% do lote.

Antes de qualquer conclusão, foi feita a vacina só com os suínos febris.

Posteriormente verificamos que dos 5 suínos rejeitados 2 morreram de peste e 3 resistiram. Estes foram, mais tarde, hiperimunizados para soro, resistindo a 50 e 200 cm³ de vírus.

Concluída a vacina, foi ela submetida à prova: 10 porcos foram usados.

Vacinação (22/7/1946): — via intramuscular

Pocilga n.º 28 { 3 suínos pretos cinta branca — 10 cm³
 3 „ brancos — 5 cm³
 3 „ vermelhos — 3 cm³
 1 „ preto — testemunha

Inoculação de Virus (13/8/1946): — 2 cm³ via intramuscular
 Virus "São Paulo"

Pocilga n.º 55

Suíno 1 — testemunha Suínos 2, 3 e 4 — 3 cm³

Suínos 5, 6 e 7 — 5 cm³ Suínos 8, 9 e 10 — 10 cm³

Esta vacina, partida n.º 308-309, não foi eficiente na prova de proteção. Morreram todos os porcos com lesões de peste e a partida foi inutilizada.

TABELA 3

	25/6	26	27	28	29	30	1/7	2	3
1-47		39,7	38,8	39,2	39,8	39,2	40,1	40,3	39,5
1-49	39,1	38,6	41,0	40,6	40,7	39,8	39,0	40,3	
7-49	39,4	39,1	39,8	40,6	40,1	39,2	40,0	39,5	
5-50	40,2	39,3	39,7	40,2	40,8	39,8	39,7	39,8	
8-50	40,2	38,1	39,0	39,0	39,4	39,2	39,8	39,1	

Tendo a partida sido preparada com os mesmos materiais usados na partida n.º 304-305, que funcionara perfeitamente, nossa atenção voltou-se para os porcos, os únicos elementos que variaram.

De fato, por indagações, soubemos que o criador tinha-nos vendido animais vacinados contra a peste com um dos produtos encontrados no comércio.

A vacina "A. B." usada não fôra eficiente, porquanto não impediu que os porcos injetados apresentassem, quasi todos, ascensão febril prolongada e, sacrificados para necrópsia, revelassem lesões típicas de peste.

TABELA 4

	13/8	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31		
1	39,2	39,0	39,8	39,6	40,7	40,6	41,0	41,1	41,2	40,5	38,2	40,2	39,5	+	-	-	-	-	-	-	-
2	40,6	39,2	40,5	39,4	38,5	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	40,0	39,6	40,4	40,2	41,0	40,1	40,4	40,5	40,7	40,6	40,5	40,3	39,8	38,0	+	-	-	-	-	-	-
4	40,1	39,8	40,5	41,2	40,8	40,7	40,6	41,0	41,0	41,1	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	39,7	39,0	40,5	41,3	40,3	40,4	41,4	40,6	40,7	40,1	39,2	40,7	39,3	37,6	36,0	+	-	-	-	-	-
6	39,5	38,8	39,6	40,4	40,6	40,9	41,0	40,7	41,1	40,7	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	38,9	38,7	40,4	39,7	40,8	40,6	40,4	40,6	40,0	40,0	38,3	39,7	39,8	+	-	-	-	-	-	-	-
8	39,3	39,0	39,8	40,3	40,3	40,2	38,0	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	39,4	39,3	39,9	40,4	41,1	41,0	40,8	40,9	40,4	40,2	40,3	40,8	41,0	40,1	39,2	39,0	38,7	36,0	+	-	-
10	39,5	39,7	39,3	40,2	40,9	40,0	40,5	41,0	40,8	41,0	40,8	40,7	39,9	+	-	-	-	-	-	-	-

Todavia, mesmo sendo produto ineficiente, interferiu, quando com o sangue dêsses suínos se fêz uma vacina.

Fato semelhante sucedeu à partida n.º 338-339, preparada com 22 suínos procedentes de uma criação próxima à Capital do Estado.

Êstes suínos estavam imunizados com certo produto de pouco valor antigênico e todos tiveram ascensão febril, embora não muito satisfatória, após a inoculação do virus.

Foram sacrificados e a vacina preparada não foi eficiente na prova de proteção, sendo inutilizada.

Suínos vacinados contra a peste, mesmo que o sejam com produto ineficiente, não servem como porcos produtores de sangue virulento.

Partida n.º 310-311: — foram usados 48 porcos, de raça comum, procedentes de uma criação do interior do Estado.

Inoculação do virus:

24 suínos inoculados em 5/7/1946 — Pocilgas 47 e 48

24 suínos inoculados em 8/7/1946 — Pocilgas 49 e 50

No dia do sacrificio foram as seguintes as médias de temperatura (gráfico 3):

GRÁFICO 3

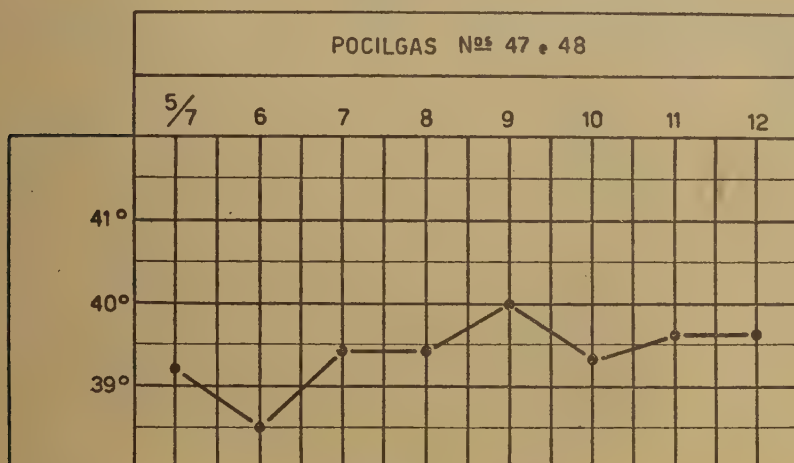
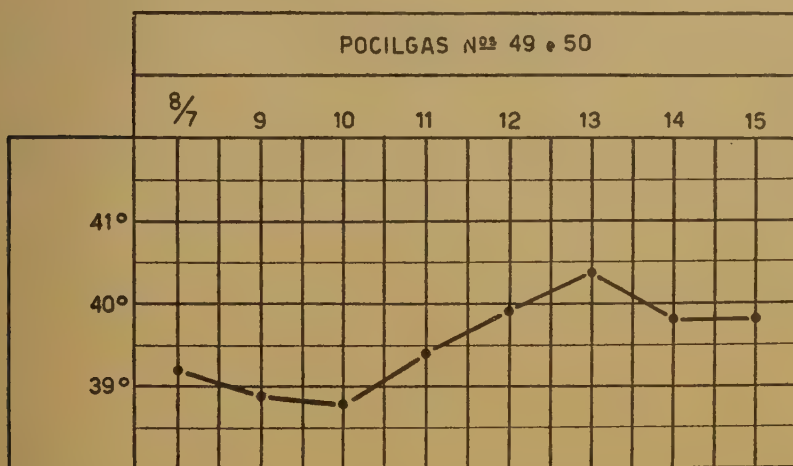


GRÁFICO 4



Péssimas médias termométricas, mostrando que os suínos apresentavam resistência ao vírus.

Não duvidamos do vírus inoculado, porquanto o mesmo vírus, usado nas provas das partidas ns. 302-A, 302-B e 300-301, funcionou perfeitamente, matando todas as testemunhas com febre e com lesões de peste.

Resolvemos escolher com todo o rigor apenas os suínos que tivessem apresentado boa curva febril.

Foram aproveitados 18 e rejeitados 30.

Exemplos de curvas febris de alguns suínos escolhidos (tabela 5):

TABELA 5

	8/7	9	10	11	12	13	14	15
5-49	39,0	39,2	39,6	41,4	41,0	41,2	40,4	41,2
9-49	39,0	39,0	39,7	41,5	40,7	41,3	40,2	41,3
11-49	39,3	38,5	39,2	40,6	40,3	40,7	40,4	40,6
6-50	39,3	39,3	38,4	40,6	41,0	41,1	40,4	40,5
10-50	39,2	38,7	39,4	40,5	40,7	40,6	40,6	41,5

Exemplos de curvas febris de alguns dos suínos rejeitados (tabela 6):

TABELA 6

	8/7	9	10	11	12	13	14	15
1-49	38,8	39,1	38,0	38,8	39,0	40,7	40,0	39,2
3-49	39,0	39,0	39,0	40,1	39,9	40,7	40,4	38,5
4-49	39,5	38,8	38,5	38,5	38,6	39,0	39,3	38,7
2-50	39,0	39,0	39,5	40,3	40,0	40,4	39,6	39,2
12-50	39,3	39,3	39,1	40,0	40,6	39,8	40,3	39,4

Todos os suínos rejeitados receberam nova dose de vírus em 15/7/1946 (5 cm³) e conitnuou-se o controle termométrico (tabela 7):

TABELA 7

	15/7	16	17	18	19	20	21	22
1-49	39,2	39,0	38,8	39,4	38,9	39,2	38,6	39,0
3-49	38,5	39,3	38,4	39,0	39,2	39,7	39,1	39,1
4-49	38,7	39,7	39,0	38,4	39,1	39,1	39,3	38,9
2-50	39,2	39,0	39,3	40,1	39,8	39,3	38,7	38,4
12-50	39,4	38,7	38,3	38,3	38,5	38,4	38,2	38,7

Todos os suínos rejeitados resistiram perfeitamente à nova dose de vírus, mostrando claramente estar imunes.

Foi feita a vacina com os 18 suínos que apresentaram boa curva febril e foi ela submetida à prova:

Vacinação (3/9/1946): — via intramuscular

Pocilga n.º 27 { 3 suínos (2 vermelhos e 1 branco) — 10 cm³
 { 1 suíno preto — testemunho

Inoculação do vírus (25/9/1946): — 2 cm³ via intramuscular

Vírus "São Paulo"

Pocilga n.º 44

Suíno 1 — testemunho Suínos 2, 3 e 4 — 10 cm³

Controle termométrico (tabela 8):

TABELA 8

	25/9	26	27	28	29	30	1/10	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	39,8	40,5	40,3	41,1	41,1	41,4	41,0	40,9	41,3	41,3	39,0	40,2	+	-	-	-	-	-	-	-	-
2	39,7	40,3	40,3	41,3	40,1	40,5	39,0	39,3	39,6	40,1	39,7	39,6	39,5	39,6	39,3	39,0	39,5	39,2	39,2	38,5	39,0
3	40,0	40,6	39,7	40,8	40,8	40,0	40,1	38,7	38,8	39,9	38,9	39,0	39,2	39,0	38,9	38,7	39,0	39,4	39,3	39,0	38,9
4	39,9	40,3	40,6	41,5	41,6	40,8	41,1	41,6	41,1	41,4	41,0	41,2	41,1	40,9	39,6	40,1	+	-	-	-	-

Esta partida não funcionou com plena eficiência. Um dos vacinados morreu com lesões de peste. Soubemos mais tarde que o criador havia vacinado os porcos que nos foram vendidos para o preparo da vacina.

Este fato repetiu-se com várias partidas em que foi feita uma escolha, aproveitando-se apenas os suínos que tiveram boa ascensão febril:

Partida	334-335	—	aproveitados	20	rejeitados	10
„	354	—	„	17	„	49
„	358	—	„	6	„	14
„	362	—	„	17	„	40

Nenhuma destas partidas deu provas de proteção satisfatorias.

Num lote de suínos vacinados, embora com produto de pouca eficiência, é inútil escolher os que apresentaram boa ascensão febril após inoculação de vírus. Pareceria razoável admitir nos animais que reagem, ter o vírus vencido a imunidade, e deverem eles portar-se de idêntico modo que os suínos sensíveis; todavia a experiência mostrou que não produzem vacina completamente eficiente.

Partida n.º 312-313: Foram empregados 93 suínos, de várias raças, procedentes do interior do Estado.

Inoculação de vírus:

Pocilga	47	—	25	porcos	inoculados	em	23/7/1946
„	50	—	19	„	„	„	24/7/1946
„	48	—	25	„	„	„	25/7/1946
„	49	—	24	„	„	„	25/7/1946

Apresentaram as seguintes médias termométricas (gráficos 5 e 6):

Nenhum suíno foi rejeitado por ter apresentado febre deficiente ou ausência de febre.

Exemplos de temperaturas individuais (tabela 9):

Feita a partida, foi ela provada em 10 porcos.

Vacinação (24/8/1946): — via intramuscular

Pocilga n.º 26	{	3	suínos	brancos	—	10 cm ³
		3	„	vermelhos	—	5 cm ³
		3	„	brancos (marcados)	—	3 cm ³
		1	„	vermelho (marcado)	—	testemunha

Inoculação do Vírus (25/9/1946): — 2 cm³ via intramuscular
Vírus “São Paulo”

Pocilga n.º 55

Suíno 1 — testemunha Suínos 2, 3 e 4 — 3 cm³Suínos 5, 6 e 7 — 5 cm³ Suínos 8, 9 e 10 — 10 cm³

Controle termométrico (tabela 10):

GRÁFICO 5

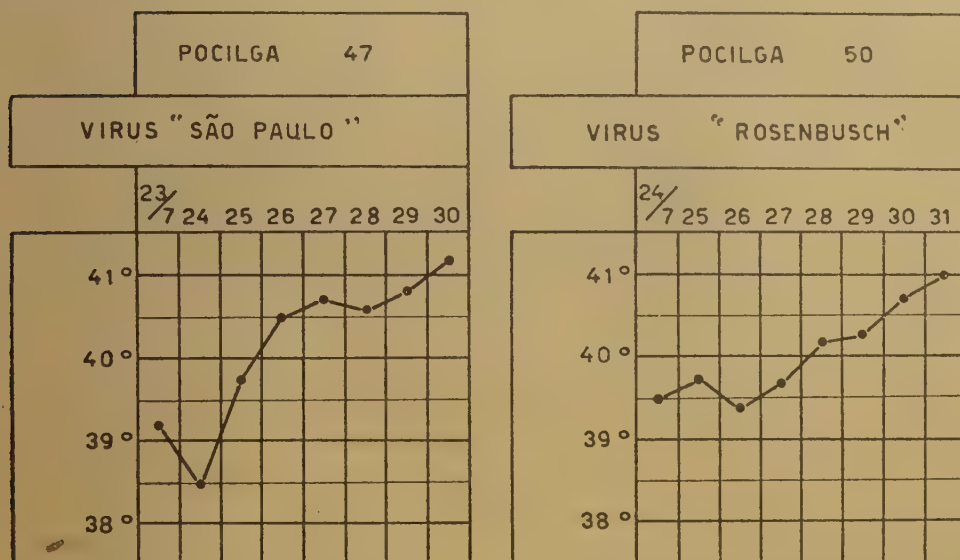


GRÁFICO 6

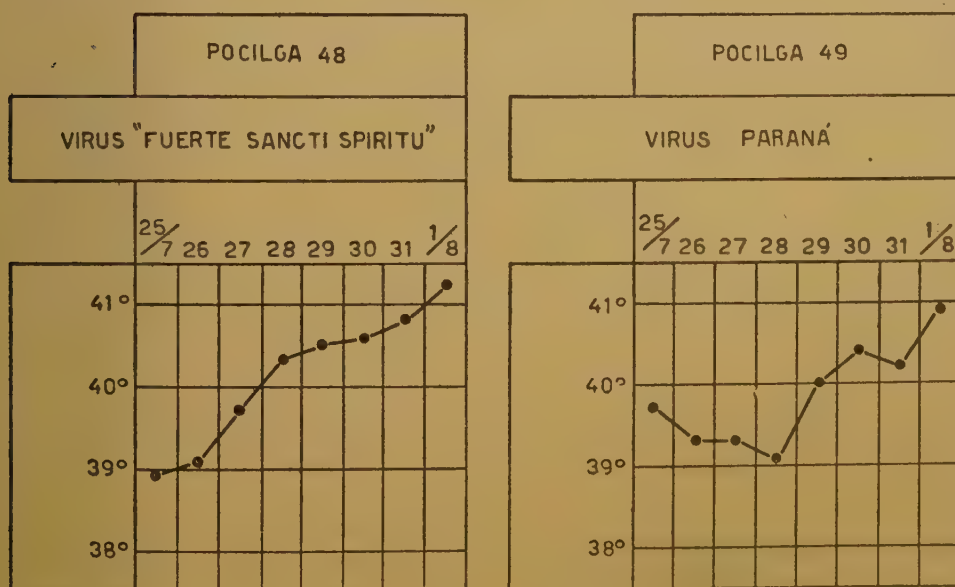


TABELA 9

	$\frac{23}{7}$	24	25	26	27	28	29	30	31	$\frac{1}{8}$
9-47	39,0	39,2	39,4	41,0	41,0	41,1	41,2	41,4		
16-47	38,9	39,3	40,4	41,5	41,0	41,5	41,2	41,9		
22-48			39,1	38,7	39,9	40,2	40,4	41,1	41,4	41,4
2-49			39,6	39,4	39,1	40,0	40,6	41,0	41,1	41,6
8-50		39,6	40,2	39,8	40,4	40,2	41,2	41,0	41,0	

TABELA 10

	$\frac{25}{9}$	26	27	28	29	30	$\frac{1}{10}$	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	39,3	39,8	39,5	39,8	40,2	40,0	39,9	41,5	39,2	40,4	41,2	41,5	41,5	41,6	+	-	-	-	-	-	-
2	39,0	38,6	39,6	40,7	40,5	39,0	40,1	39,8	38,4	39,0	39,4	39,3	39,0	39,1	39,0	38,5	38,5	38,5	39,0	39,3	38,5
3	39,1	40,0	38,8	40,4	39,9	39,3	39,7	38,6	38,7	39,3	38,7	38,6	38,9	38,7	38,0	38,0	38,1	38,9	38,5	38,2	39,1
4	39,6	39,0	39,3	40,2	39,9	40,2	41,2	40,6	39,5	39,8	39,1	39,0	38,8	39,0	38,9	39,0	38,7	39,3	39,6	39,1	39,0
5	40,5	39,9	39,4	39,3	39,2	39,0	40,0	40,0	39,6	39,5	39,2	39,2	39,5	39,2	39,1	38,9	39,0	39,0	39,2	38,4	38,6
6	39,7	40,4	39,5	39,6	39,8	40,3	40,5	40,2	39,9	40,1	39,6	38,9	39,4	39,4	39,5	39,0	38,6	38,6	38,9	39,0	38,8
7	39,7	39,5	39,6	39,1	40,0	40,4	39,3	39,0	39,2	39,1	39,6	39,0	39,6	38,9	39,2	38,7	38,9	38,9	38,5	39,1	39,0
8	39,1	39,2	39,5	39,3	39,9	39,7	41,1	40,3	40,0	40,0	39,8	39,2	39,3	38,8	39,5	39,1	38,8	39,0	38,8	39,4	38,4
9	39,7	40,1	39,7	40,0	38,6	40,0	40,2	39,4	39,3	39,5	39,9	39,2	39,0	39,1	38,2	38,2	39,0	39,5	38,9	38,6	38,6
10	39,5	39,2	39,0	38,9	38,6	39,0	39,3	39,5	41,1	39,8	39,4	39,0	39,1	39,0	39,1	38,4	38,7	38,8	38,7	38,9	39,0

A testemunha morreu e todos os restantes apresentavam-se sadios no fim da prova.

Esta partida funcionou perfeitamente na dose de 3 cm³. Foi recomendada na prática na dose de 5 cm³.

Os porcos sensíveis dão boa ascensão térmica com o vírus da peste e o sangue desses porcos não vacinados produz, quando não houver outras causas de erro, uma boa vacina.

Partida n.º 294-295: Uma confirmação experimental de que os porcos vacinados, embora mal imunizados, não servem para o preparo de vacina, foi dada pela partida n.º 294-295, preparada com 30 suínos de provas das partidas ns.: 272, 276, 278, 280 e 242.

As partidas ns.: 272, 276, 278, 280 e 242, foram submetidas às provas de proteção, injetando-se vários lotes de suínos com doses de 5 cm³. No dia 8/4/1946 todos os porcos, inclusive as testemunhas, receberam virus apresentando as seguintes médias termométricas (gráfico 7):

Verificando-se que o virus provocou elevação térmica como se os porcos não estivessem vacinados, foram estes sacrificados para o preparo de vacina.

Feita a vacina e provada com 7 porcos, verificou-se falha da partida.

Vacinação (9/5/1946): — via intramuscular

Pocilga n.º 26	{	3 suínos brancos — 10 cm ³
		3 „ vermelhos — 5 cm ³
		1 „ branco (marcado) — testemunha

Inoculação do Virus (31/5/1946): — 2 cm³ via intramuscular
Virus “São Paulo”

Pocilga n.º 36

Suíno 7 — testemunho Suínos 1, 2 e 3 — 5 cm³

Suínos 4, 5 e 6 — 10 cm³

Controle termométrico (tabela 11):

Três dos suínos vacinados morreram com lesões de peste.

Na realidade, os suínos usados no preparo da partida estavam apenas mal vacinados como posteriormente foi verificado.

As partidas 272, 276, 278, 280 e 242 não protegeram na dose de 5 cm³

Submetidas a novas provas, funcoïnaram todas perfeitamente na dose de 10 cm³, excetuando-se a partida 242.

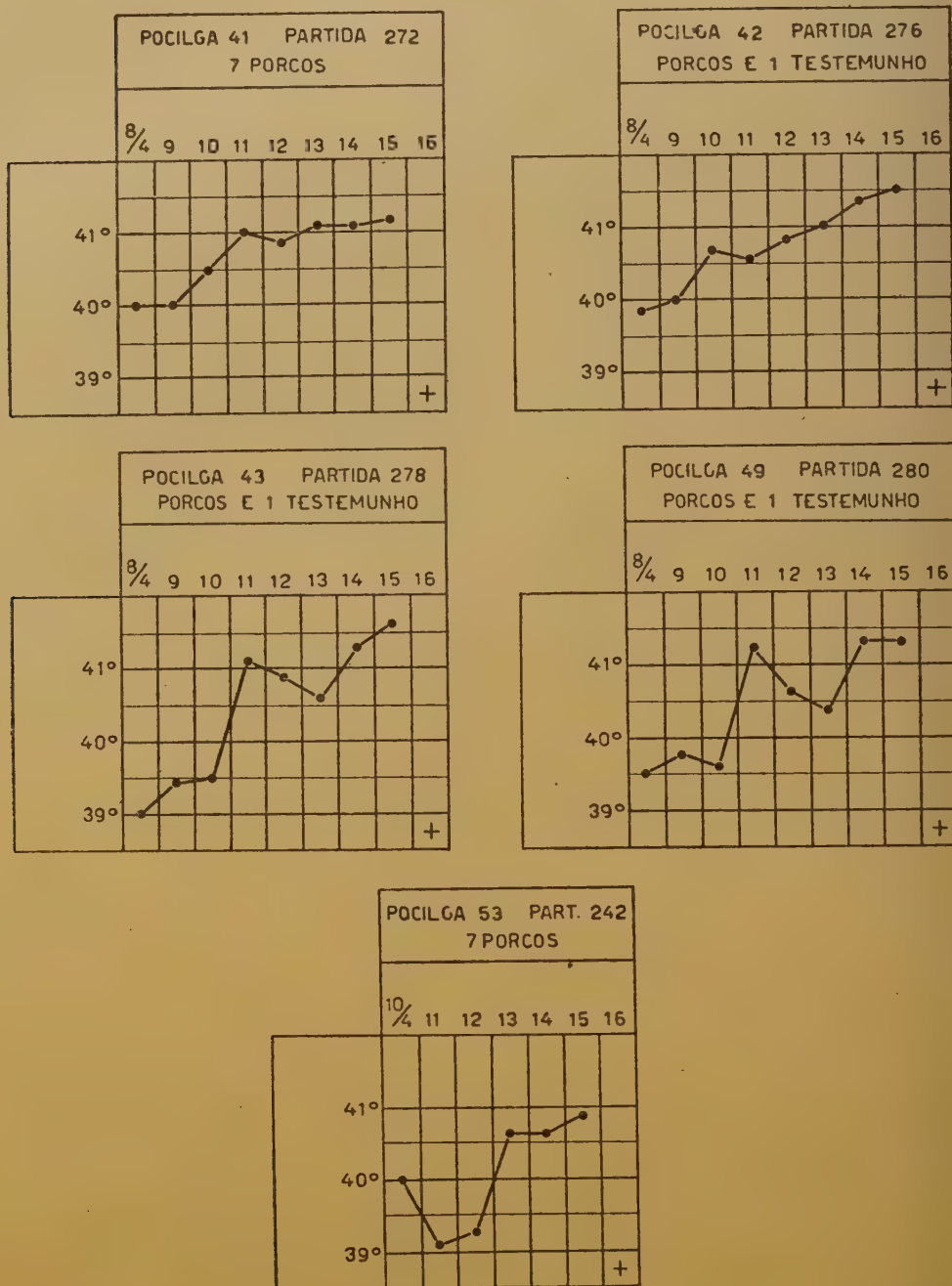
Os suínos parcialmente protegidos não suportaram perfeitamente a inoculação do virus, mas o sangue desses suínos, mesmo assim, não produziu boa vacina.

* * *

Os suínos imunizados com vacina ou soro e virus não deverão ser usados como fornecedores de sangue virulento, qualquer que seja o prazo decorrido após a imunização.

Os suínos que receberam soro e vírus têm uma duração de imunidade muito longa, pelo que facilmente se compreende que não mais poderão ser usados, com segurança, no preparo de vacina.

GRAFICO 7



Presume-se que os suínos em que foi aplicada a vacina tenham uma proteção de 10 meses, afirmando alguns autores que ela vai até 12 meses. Assim sucede em se tratando de resistência contra a moléstia.

TABELA 11

	$31/5$	$1/6$	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	38,9	39,2	39,4	39,2	39,3	39,0	38,5	38,4	39,0	39,0	38,8	39,2	38,3	39,2	38,8	38,9	39,0	40,0	39,1	39,0	40,5
2	39,0	39,6	38,5	39,1	40,6	40,9	40,6	41,4	40,6	41,0	40,4	40,9	39,7	40,0	40,5	41,3	41,3	39,9	38,4	37,0	+
3	39,7	39,8	40,2	40,0	40,7	40,4	40,7	39,3	39,8	40,2	38,8	38,3	38,0	38,4	38,7	39,1	38,9	38,3	39,0	38,4	39,4
4	39,2	40,0	40,1	40,7	40,2	40,5	40,1	40,0	40,1	40,8	40,0	38,2	39,6	40,3	40,6	36,0	36,0	+	-	-	-
5	39,1	39,1	38,5	40,1	40,4	40,5	38,6	38,9	39,0	39,0	38,2	38,8	37,9	38,1	38,2	38,8	38,7	38,8	37,7	38,2	39,1
6	38,6	39,7	40,2	40,3	39,6	39,8	40,0	37,7	39,3	39,6	38,3	38,7	38,5	39,0	38,9	40,3	-	-	-	-	-
7	40,2	39,7	39,5	41,1	39,8	40,0	40,3	39,5	40,3	40,2	39,7	38,6	38,1	37,0	+	-	-	-	-	-	-

Compreende-se todavia que essa imunidade não cessa bruscamente no prazo mencionado, mas que decrescerá lentamente.

Nessa ocasião os suínos passarão a comportar-se, quando inoculados, como os porcos mal imunizados ou insuficientemente imunizados, cuja análise já fizemos.

Essa imunidade residual deixada pela vacina dura vários meses, variando o seu término com a suscetibilidade individual do suíno.

Admitindo a possibilidade de todos os suínos tornarem-se de novo completamente sensíveis ao vírus, estarão eles então num estado de desenvolvimento antieconômico para o preparo de vacina.

* * *

Os suínos que só receberam soro têm, como geralmente se admite, uma imunidade passiva contra a peste, por 20 e no máximo 30 dias.

Partida 336-337: Foram inoculados para esta partida 46 suínos procedentes de uma criação próxima à Capital do Estado.

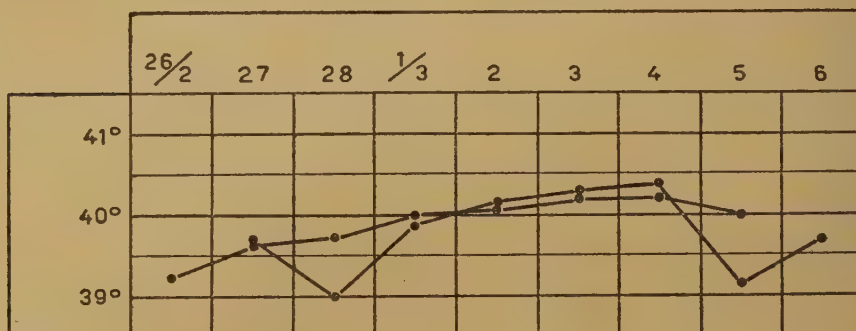
Esses suínos estavam nas vizinhanças de criações com peste e em 28/12/1946 todos foram injetados por via intramuscular, com Soro contra a peste suína, preparado no Instituto Biológico de São Paulo, na dose de 1 cm³ por kg de peso vivo.

Lembramos aqui que o nosso soro protege, nas provas, mesmo na dose de $0,3 \text{ cm}^3$ por kg de peso vivo.

Em 26 e 27/2/1947, portanto 2 meses depois, os 46 suínos receberam 2 cm^3 de vírus por via intramuscular.

Apresentaram as seguintes médias térmicas (gráfico 8):

GRAFICO 8



Deixaram de ser sacrificados 32 porcos. Grande parte não apresentou ascensão térmica satisfatória e alguns nenhuma ascensão. Somente 2 vieram a morrer de peste e os 30 restantes permaneceram em perfeito estado de saúde, durante mais um mês de observação, findo o qual foram enviados para uma criação de suínos.

Foram sacrificados 14 que mostraram precário estado clínico e febre acima de 40°C nos últimos 3 dias antes do sacrifício.

A vacina preparada com êsses 14 porcos não deu prova de proteção eficiente.

Partida 368-369: Preparada com 58 suínos; 19 destes, em 5/3/1947, na criação onde estavam, receberam, por via intramuscular, 10 cm^3 de soro contra a peste suína do Instituto Biológico de São Paulo. A dose correspondeu a cerca de $0,5 \text{ cm}^3$ por kg de peso vivo.

Em 20/5/1947, 2 meses e meio depois, êsses suínos receberam vírus; 14 tiveram febre e foram sacrificados, 2 morreram na manhã do sacrifício e 3 não tiveram febre, sendo rejeitados.

Esta partida funcionou nas provas.

Em vista desses fatos, parece que a duração da imunidade, pelo menos para os soros potentes como o nosso, é mais longa do que comumente se admite.

Após a fase de duração da imunidade útil, isto é, em que 100% dos porcos resistem à peste, aparece a fase da imunidade residual, que vai decrescendo.

Nessa ocasião os suínos injetados com virus adoecem de peste, mas seu sangue não produz boa vacina.

Os suínos inoculados com soro, em rigor só poderiam ser usados no preparo de vacina pelo menos 6 meses após a injeção.

* * *

Os porcos que já tiveram peste e se restabeleceram não servem para o preparo da vacina.

Sabe-se que o porco, tendo sarado da peste, adquire sólida imunidade e portanto não apresentará reação febril quando inoculado com virus.

Este conceito é muito antigo, sendo por êsse motivo que PREISZ, em 1897, teve a idéia de empregar, para fins imunizadores, soros de suínos que tiveram peste e se restabeleceram.

VIRUS

A amostra original de virus de peste suína deve ser colhida de animais com peste natural, sacrificados com febre elevada, alguns dias após terem apresentado os sintomas clínicos, escolhendo-se os isentos de outras moléstias.

Não aconselhamos a colheita de sangue, por ser muito mais difícil obtê-lo em condições de assepsia no campo e por necessitar de preparo antes da conservação. É necessário que seja disfibriado, por agitação em frasco com pérolas de vidro ou com bastões assépticos e em seguida a êle juntados 40% de glicerina. Julgamos mais fácil colher, por meio de tesoura e pinça estéreis, fragmentos de baço e gânglios, que apresentarem lesões e, em seguida, guardá-los em frascos com água destilada e glicerina, em partes iguais.

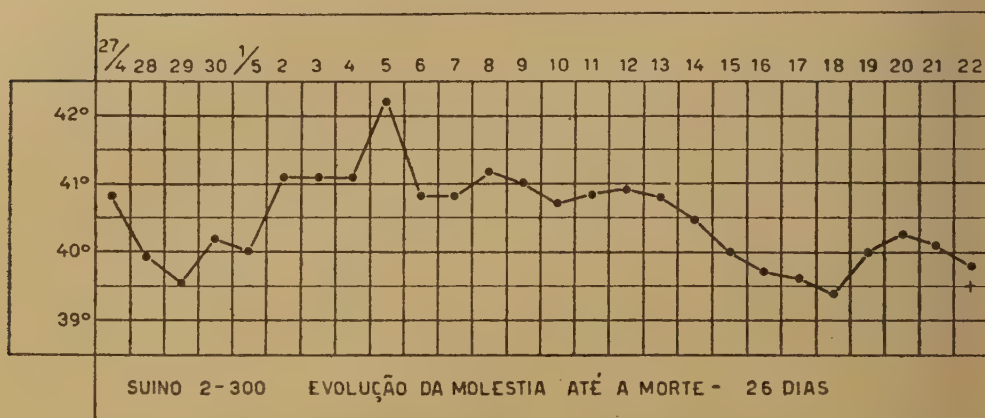
Não recomendamos a colheita de virus de porcos mal vacinados que estejam doentes ou que tenham morrido de peste.

Dois suínos foram inoculados com virus "Paraná". O n.º 2-300 com virus procedente de porco vacinado que morrera de peste. O n.º 1-242 com virus procedente de porcos não vacinados, mortos de peste.

Controle termométrico:

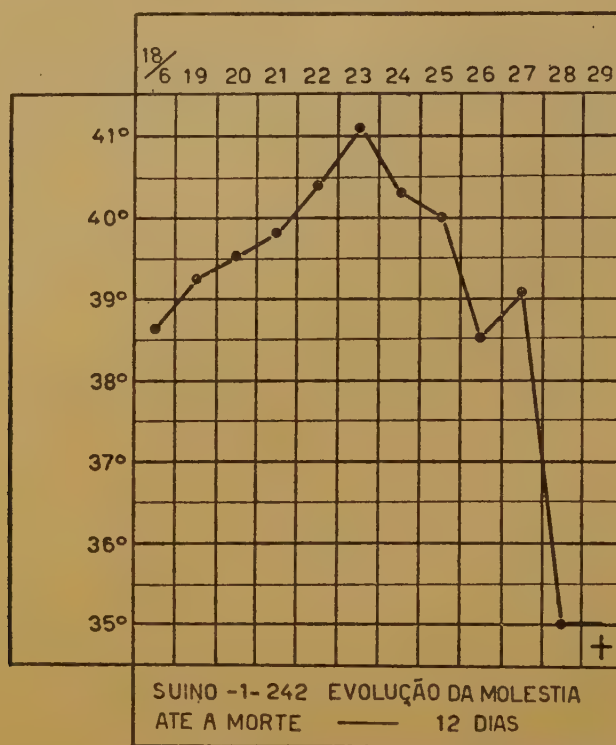
Curva térmica de um suíno inoculado com virus Paraná, procedente de um porco vacinado que morrera de peste (gráfico 9):

GRAFICO 9



Curva térmica de um suíno inoculado com vírus Paraná, procedente de porcos não vacinados que morreram de peste (gráfico 10):

GRAFICO 10



Examinando-se as curvas febris, verifica-se que, conquanto ambos fossem capazes de matar os suínos, o vírus procedente de suínos vacinados produz uma forma clínica de peste muito menos aguda.

A conservação do vírus em laboratório, para inoculação em suínos de fabrico e prova de vacina, é feita por nós do seguinte modo:

Dos porcos sangrados para fabrico de vacina no 7.º dia completo após a inoculação, escolhemos 3 a 5 que apresentaram as melhores reações térmicas.

Separa-se, após a desfibrinação, um pouco de sangue de cada um desses suínos; misturam-se essas parcelas de sangue virulento em frasco ou balão estéril, preferivelmente vidro neutro, e juntam-se 40% de glicerina pura. Conserva-se em geladeira.

Dos suínos sangrados, quando feita a necrópsia, escolhemos 3 a 5 que apresentarem as melhores lesões.

Cortam-se fragmentos de baço e gânglios desses suínos, escolhendo-se, de preferência, partes lesadas desses órgãos. Os fragmentos são colocados em frascos ou balão estéril, preferivelmente de vidro neutro, e junta-se para cada parte de órgão uma de glicerina pura e uma de água destilada. Conserva-se em geladeira.

No momento de usar, a amostra a ser inoculada é preparada misturando-se:

- a) sangue virulento desfibrinado glicerinado a 40%, 1 parte;
- b) baço e gânglios triturados em gral, suspensos (em suspensão espessa) no meio que lhes serviu de conservador e filtrados em gaze, 1 parte.

Em nossos trabalhos verificamos que há variações de virulência de amostras escolhidas em diferentes lugares ou em diferentes condições.

Na mesma amostra a virulência pode ser exaltada, por passagens sucessivas, até o limite máximo que lhe é peculiar e daí por diante essa virulência permanece constante nas inoculações, desde que se usem sempre porcos sensíveis e que os intervalos entre as inoculações não sejam demasiado longos.

Ativando-se por passagens sucessivas várias amostras de vírus, verificamos que o máximo de virulência varia com a amostra, não se podendo todavia dizer que haja variações de tipo do vírus.

As partidas por nós preparadas: ns.: 300-301 com vírus "Paraná", 302-303 com vírus "Rosenbusch" (República Argentina); 304-305 com vírus "Fuerte Sancti Spiritu" (República Argentina) e a partida 312-313 preparada com mistura de vírus "São Paulo", "Paraná", "Rosenbusch" e "Fuerte Sancti Spiritu" protegeram todas perfeitamente contra o vírus São Paulo.

O vírus conserva-se muito tempo quando em boas condições, mas a amostra que viaja pode passar por diversas condições de calor e variações bruscas de temperatura que a enfraquecem ou inutilizam.

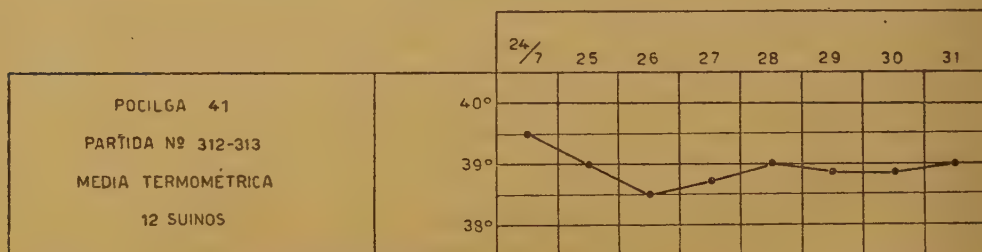
Deve-se de início prová-la e ao mesmo tempo ativá-la. Escolhem-se 2 a 4 porcos novos, sensíveis, colocam-se em local isolado e inoculam-se com o vírus original. Faz-se o controle termométrico, sangram-se no 7.º dia completo após a inoculação. Escolhe-se o sangue dos que apresentarem melhores reações febris e órgãos dos que mostrarem melhores lesões. Este vírus, ativado, servirá para futuras inoculações.

Por não se ter observado este princípio, perdemos 12 suínos na partida 312-313.

Tendo recebido amostra de vírus norte-americano, em embalagem original e confiados no rótulo que dizia ser válido até 19 de agosto de 1946, injetamos 12 suínos com esse vírus em 24 de julho de 1946.

Com surpresa nossa, os suínos apresentaram, no dia do sacrifício, a seguinte temperatura média (gráfico 11):

GRÁFICO 11



Examinados em 31/3/1946, esses suínos apresentaram-se em perfeito estado de saúde.

Não foram sacrificados. Não era possível atribuir-lhes imunidade natural ou adquirida por vacinação ou moléstia, porquanto foram escolhidos ao acaso num lote de 105 porcos e todos os outros 93 inoculados com outros vírus na mesma partida apresentaram quadros típicos de peste e teria sido extraordinária coincidência escolherem-se 12 refratários de um lote de 105.

De fato foram conservados na pocilga onde estavam, em ambiente infecto. Embora essa pocilga tivesse sido desinfetada antes de nela terem sido colocados os porcos, faz parte de um bloco de

pocilgas onde são manejados porcos de virus e onde se processam as inoculações; tôdas têm os mesmos tratadores, mesmos apetrechos de limpeza, e mesmo termométro.

Alguns dias após, êsses suínos começaram a apresentar os sintomas febris e em seguida sinais clínicos de peste e num período variável de 20 a 29 dias, depois de terem sido postos na pocilga, morreram todos de peste.

Tratava-se pois de porcos sensíveis que foram inoculados com virus morto, embora a amostra ainda estivesse dentro do período de validez.

Não poderia ter sido o virus injetado "causa mortis", pois que um virus normal, por inoculação, não levãria tanto tempo para apresentar os sintomas febris.

A questão do uso de virus estéril ou não estéril tem aspectos próprios. Em nossa prática corrente estabelecemos o seguinte critério:

- 1) — não importa que o virus não seja estéril, uma vez que a contaminação seja por germens saprofitas;
- 2) — não importa a contaminação do virus por germens patogênicos, uma vez que a via intramuscular, usada habitualmente para o virus, não permita a êsses germens afetarem o suíno;
- 3) — deve-se inutilizar a amostra de virus contaminada por germens septicêmicos; dentre êstes destacamos especialmente o vibrião séptico;
- 4) — um virus que vai ser conservado por algum tempo ou que deverá ser remetido para outros laboratórios, submetido a várias condições durante a viagem, deverá de preferência ser estéril.

DAVID (7) verificou que, à temperatura ambiente, o sangue conserva a virulencia, sem precauções especiais, por tanto mais tempo quanto menos contaminado estiver. Essa virulencia alcança até 50 dias no sangue quase isento de germes.

Finalizando esta parte, insistimos no exame dos lotes de suínos injetados com virus, para escolha de alguns, que melhor reagirem, como fornecedores de virus.

Temos verificado que a passagem por lotes de suínos pouco sensíveis enfraquece o virus, necessitando êle de novas passagens em suínos sensíveis para restabelecer a virulência.

Como uma das condições essenciais do vírus é sua alta virulência, deve-se evitar a colheita de amostras de vírus quando os suínos apresentarem alguma resistência.

INOCULAÇÃO

Em todas as nossas inoculações para o fabrico de vacina, prova de vacina e prova de soro, usamos sempre a dose de 2 cm³ de vírus, por via intramuscular, para cada suíno.

Não há vantagens em doses maiores.

Numa de nossas ativações, injetamos com o mesmo frasco de vírus as seguintes doses:

Porcos 1 e 2 — 10 cm³

Porcos 3 e 4 — 2 cm³

O controle termométrico não mostrou praticamente diferença (tabela 12):

TABELA 12

	5/10	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	40,7	39,6	40,7	40,8	40,9	41,4	40,5	41,0				
2	41,0	39,8	39,9	39,5	39,7	40,0	41,5	40,8				
3					40,1	39,1	40,4	40,5	40,9	40,6	42,0	41,4
4					39,5	39,2	39,3	39,0	40,8	40,4	41,7	41,0

Em várias outras ocasiões empregamos doses de vírus de 2, 3, 5 e 10 cm³, nunca podendo ser observadas diferenças no aparecimento e desenvolvimento da peste.

Doses menores que 2 cm³ também produzem peste típica. Na partida n.º 302-303, dispondo de pouca quantidade de vírus "Rosenbusch", diluimo-lo, cabendo a cada porco:

vírus	0,25
água fisiológica ...	1,75
cm ³	2,00

Todos os animais apresentaram peste típica, elevando-se a temperatura em prazo igual ao das outras inoculações com 2 cm³ de vírus.

Contudo a medição de doses menores é mais difícil, não oferecendo economia razoável e só se justificando em condições excepcionais ou para fins experimentais.

A inoculação de vírus por via bucal produz também o mesmo resultado, dando um perfeito quadro de peste; e na experimentação por nós efetuada a ascensão febril apresentou-se num prazo mais ou menos igual ao em que se injeta por via intramuscular.

Controle termométrico de suínos que receberam 5 gotas de vírus por via bucal (tabela 13):

TABELA 13

	29/8	30	31	1/9	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
6	39,3	39,3	39,4	39,7	40,8	41,3	40,5	39,8	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	40,4	39,3	39,8	40,3	41,8	40,7	40,5	41,9	41,3	41,5	40,8	41,3	40,6	39,5	+	-	-	-	-	-	-
9	40,4	39,1	40,6	40,0	40,9	40,5	40,3	41,2	40,7	41,0	40,7	40,6	39,6	38,0	37,0	36,0	34,0	+	-	-	-
10	39,3	39,5	39,6	39,3	40,5	40,3	40,0	41,0	40,6	40,3	40,0	40,5	40,5	39,9	40,4	40,4	40,3	40,0	39,8	+	-

A possibilidade de uso de doses grandemente variáveis de vírus, obtendo-se sempre os mesmos quadros de peste, deve-se ao enorme número de doses letais contidas em 1 cm³ de vírus.

COLE, HENLEY e HUBBARD verificaram, em 1946 (4), que o sangue virulento perfeitamente ativo contém de 1.000.000 a 2.500.000 unidades letais-porco por cm³.

Isso significa que é possível produzir um quadro típico de peste, com as seguintes frações de cm³ de sangue virulento:

0,000.001 a 0,000.000.4

A inoculação é indispensável no fabrico da vacina. Dentre as várias vias achamos preferível a intramuscular, capaz de produzir a peste com tempo de incubação e quadro febril mais ou menos uniformes.

Tendo-se em vista a produção de vacinas de teôr antigênico relativamente uniforme, não se deve em absoluto confiar no contágio por contacto dirêto.

O contacto dirêto entre suínos doentes e sadios produz a peste, mas a incubação perde a uniformidade, pois que a penetração do vírus fica submetida ao acaso. A sangria após determinado número de dias nem sempre coincidirá com o período em que o sangue de todos os suínos estiver no seu ótimo de concentração de vírus. Re-

sultará disso uma vacina de fraco poder de proteção; só excepcionalmente apresentará plena eficiência.

CONTROLE TERMOMÉTRICO

O controle termométrico após a inoculação de vírus é absolutamente necessário. As temperaturas individuais dos porcos e as médias termométricas dos lotes constituem precioso índice do provável funcionamento da partida.

Para a fabricação de vacina os porcos inoculados devem apresentar temperatura individual acima de 40°C nos últimos 3 dias do controle. Este preceito, já observado por PENHA e D'APICE, obteve ampla confirmação no decorrer do preparo de várias partidas de vacina.

Eliminar os que reagirem mal, ou todo o lote, se fôr preciso.

É preciso examinar os antecedentes de todos os porcos inoculados, porque, como já provamos, porcos mal vacinados podem ter uma elevação térmica, não dando todavia boa vacina.

Examinando-se com cuidado o quadro febril de um lote de suínos verifica-se que os porcos sensíveis apresentam relativa uniformidade. Quadro não uniforme sucede com porcos vacinados, que não apresentam febre sensível ou contínua, e com os mal vacinados, que mostram grandes falhas de uniformidade.

O início de elevação da temperatura varia com a sensibilidade do porco e com a virulência da amostra. Vírus potentes elevam a temperatura do 2.º ao 3.º dia. Todavia uma elevação térmica no 3.º ou 4.º dia pode ser considerada boa.

Em nossa rotina de preparo de vacina a temperatura é tirada por via retal, sempre pela manhã, mais ou menos à mesma hora. Tiramos a temperatura na manhã do dia da inoculação e assim todos os dias até a manhã do sacrifício. São ao todo 8 tomadas de temperatura, correspondendo a 7 dias completos.

A tomada de temperatura deverá ser cuidadosamente efetuada e registrada com exatidão.

Os termômetros não precisam ser de alta precisão; todavia é necessário contar com bons termômetros clínicos, para uso veterinário. Deve-se usar de marca de confiança, pois no comércio encontramos, com mais frequência do que se supõe, péssimos termômetros.

Verificando certa ocasião falta de uniformidade quando tomávamos sucessivamente temperatura do mesmo animal com diferen-

tes termômetros, resolvemos aferir os 11 termômetros em uso. Pertenciam a uma marca comum, norte-americana, e vinham com certificado de aferição. Foram comparados com um termômetro padrão e apresentaram (tabela 14):

TABELA 14

	Tempe- ratura	Diferen- ça	Tempe- ratura	Diferen- ça	Tempe- ratura	Diferen- ça	Tempe- ratura	Diferen- ça
Termômetro padrão	36,0	—	38,0	—	40,0	—	42,0	—
" 1	35,7	— 0,3	37,9	— 0,1	39,8	— 0,2	41,8	— 0,2
" 2	36,0	0	38,2	+ 0,2	40,3	+ 0,3	42,0	0
" 3	35,6	— 0,4	37,7	— 0,3	39,7	— 0,3	41,7	— 0,3
" 4	35,8	— 0,2	37,9	— 0,1	39,7	— 0,3	41,9	— 0,1
" 5	36,0	0	38,0	0	40,0	0	42,0	0
" 6	36,0	0	38,2	+ 0,2	40,5	+ 0,5	42,1	+ 0,1
" 7	36,0	0	38,0	0	39,9	— 0,1	41,9	— 0,1
" 8	36,0	0	38,0	0	40,0	0	42,0	0
" 9	36,0	0	38,0	0	40,0	0	42,0	0
" 10	36,4	+ 0,4	38,3	+ 0,3	40,2	+ 0,2	41,9	— 0,1
" 11	35,8	— 0,2	38,0	0	39,9	— 0,1	41,9	— 0,1

SACRIFÍCIO

A técnica de sangria empregada atualmente no Instituto Biológico, baseada nos trabalhos de PENHA e D'APICE, consiste na seguinte série de operações:

Amarram-se as pernas trazeiras do porco, com laço de corrente, e suspende-se o animal por meio de talha ou guincho.

Dois auxiliares imobilizam as pernas dianteiras, estendendo-as para baixo e afastando-as do corpo, enquanto um terceiro segura por meio de uma corda passada dentro da boca e torcida sobre o focinho.

Prende-se com pinça de Kocher o prepúcio dos machos, para evitar que eles urinem durante a agonia.

Procede-se então ao preparo e desinfecção do campo operatório, na região pré-external:

- 1) — ensaboar com pincel de barba tôda a região até o meio do pescoço;

- 2) — raspar os pelos com navalha afiada
- 3) — pincelar tintura de iodo a 5%;
- 4) — tirar o excesso de iodo com álcool.

A sangria é então feita, usando-se faca pontuda, de lâmina réta, medindo cerca de 15 cm de comprimento e previamente fervida, introduzindo-a rápida e profundamente próximo à linha mediana do pescoço, diante da cabeça do externo, até atingir, na cavidade torácica, os grandes vasos sanguíneos ligados ao coração.

Outro auxiliar espera atentamente ao lado o momento oportuno para colher, em provete estéril de 2 litros de capacidade, as golfadas de sangue, colocando a boca do frasco alguns centímetros abaixo do orifício deixado pela faca, no mesmo instante em que esta tenha sido retirada.

Os provetes são esterilizados com antecedência pondo-se alguns centímetros cúbicos de formol dentro deles, cobrindo-se em seguida com um pedaço de papel preso com elástico e deixando-se assim durante 24 horas. No dia seguinte escorre-se o formol e lava-se cada provete três vezes com água salina estéril. Ficam cobertos com papel até o momento de serem usados.

A colheita de sangue é rápida. Assim que esteja terminada, desfibrina-se o sangue agitando-o vigorosamente durante 5 a 10 minutos com bastão de vidro fervido, ou máquina agitadora apropriada; e em seguida cõa-se em peneira metálica fina, ou gase estéril, para retirar os coágulos de fibrina.

Terminada a sangria, o sangue dos provetes é coado outra vez e a mistura para preparo da vacina é distribuída em balões estéreis. A conservação do sangue na geladeira para o preparo da vacina no dia seguinte é prática admissível, mas aconselhamos evitá-lo na medida do possível.

Os suínos devem ser sacrificados, por sangria a branco, no 7.º dia completo após a inoculação.

Data já de alguns anos a noção de que a maior concentração de vírus no sangue se dá entre o 6.º e o 8.º dia após a inoculação. COLE, HENLEY e HUBBARD, em 1946 (4) publicaram um trabalho onde, por meio de diluições sucessivas, procuraram estabelecer a dose letal mínima por cm³ de sangue virulento, nos vários dias após a inoculação.

Em linhas gerais, consistiu o trabalho em injetar com 2 cm³ de vírus potente certo número de suínos, sangrá-los parcialmente em

dias vários após a inoculação e, diluindo o sangue, procurar infectar por injeção suínos receptíveis, mantidos em isolamento quase sempre individual. Foram empregados 140 suínos nessa experiência, obtendo-se os seguintes resultados (tabela 15):

TABELA 15

diluições por cm ³	dias após a inoculação, em que foi colhido o sangue por sangria parcial dos inoculados:						
	3º	4º	5º	6º	7º	8º	9º
1/25.000	+	+	+	+	+	+	+
1/250.000		+	+	+	+	+	+
1/500.000				+	+	+	+
1/750.000				+	+	+	
1/1.000.000				+	+		
1/2.500.000					+		
1/5.000.000							
1/10.000.000							
+ = diluições capazes de provocar a Peste em suínos sensíveis.							

Verifica-se por essas provas que o sangue virulento é mais ativo no 7.º dia após a inoculação.

Uma confirmação indireta foi obtida por nós, examinando as provas de proteção de várias partidas de vacina preparadas, por sangria dos suínos em dias variáveis após a inoculação:

Partida	272-273	—	porcos	sangrados	no	8.º	dia
„	274-275	—	„	„	„	„	„
„	276-277	—	„	„	„	„	„
„	278-279	—	„	„	„	„	„
„	280-281	—	„	„	„	„	„
„	296-297	—	„	„	„	9.º	„

Nenhuma destas partidas protegeu os suínos inoculados com dose de 5 cm³. Protegeram com doses de 10 cm³.

Partida	298	—	porcos	sangrados	no	7.º	dia
„	300	—	„	„	„	„	„
„	302	—	„	„	„	„	„
„	304-305	—	„	„	„	„	„
„	312-313	—	„	„	„	„	„
„	314	—	„	„	„	„	„
„	316-317	—	„	„	„	„	„

Tôdas estas partidas protegeram os suínos injetados com 5 cm³. As Partidas 312-313, 314, 316-317 protegeram também com 3 cm³.

O dia do sacrificio é portanto fundamental para a eficiência de uma partida. Sangrar no 7.º dia completo após a inoculação: nem um dia antes, nem um dia depois.

Sendo variável o teor de virus no sangue nos dias sucessivos após a inoculação, isso explica a pouca possibilidade de serem obtidas vacinas plenamente eficientes por sangria de suínos com peste natural, nas epizootias.

Para que tal fôsse possível seria necessário:

1) — verificar pelas vias naturais de infecção, qual o dia em que o virus atinge o máximo de concentração no sangue;

2) — análise precisa dos dados clinicos apresentados pelos doentes, afim de serem sangrados unicamente aqueles que estejam no dia exato de maior concentração de virus no sangue.

Só mediante obediência a êstes dois preceitos seria possível a obtenção de vacinas eficientes dos suínos de doença natural.

Conhecedores que somos das enormes dificuldades práticas, principalmente com referência ao item 2, que poderá exigir várias visitas à mesma criação, preferimos não aconselhar o uso de porcos com peste natural.

Outro cuidado que precisa ser observado a fim de que a sangria seja efetuada no 7.º dia consiste no exame acurado do lote a ser inoculado e na tirada da temperatura antes da inoculação.

Inoculando um lote de suínos em que haja doentes de peste por qualquer contágio accidental, isso fará que já tenha passado o dia ótimo na ocasião do sacrificio. Êsse fato nos sucedeu na partida n.º 322-323, em que de 40 porcos inoculados com virus, 17 estavam recentemente contaminados.

A vacina obtida, embora desse boa prova, não teve todavia a plena eficiência desejada.

NECROPSIA

Após a sangria a branco, os suínos são necropsiados.

Verificam-se as lesões de peste, as moléstias intercorrentes e colhem-se os órgãos de interesse para o preparo das partidas de órgãos.

Na nossa prática de rotina examinamos sistematicamente as lesões de peste nos seguintes órgãos:

olhos, pele, gânglios, baço, rins, bexiga, coração e pulmões, — fáceis e cômodos de serem observados em necrópsia rápida, exigida pelo grande número de suínos habitualmente sacrificados.

Não é aproveitado o sangue de suínos que mostrarem lesões de tuberculose ou de moléstias septicêmicas.

Não se deve aproveitar o sangue dos suínos em estado agônico ou com hipotermia. Muitas vezes alguns dos suínos inoculados adoe-cem com forma hiper-aguda de peste, encontrando-se em agonia no dia do sacrifício. Tais animais não devem ser aproveitados, por-quanto nesse estado a flora bacteriana secundária invade o orga-nismo e nem sempre na ocasião das provas a vacina se apresenta estéril.

O vírus da gripe não prejudica a vacina. Empregamos muitas vezes sangue e órgãos de suínos com lesões evidentes de gripe, na preparação da vacina, não tendo jamais observado o mínimo aci-dente na prática.

Os órgãos colhidos são o baço e os gânglios. PENHA, efetuando experiências com as vacinas de vários órgãos: baço, gânglios, fi-gado, pulmões e coração, verificou que apenas o baço e os gânglios fornecem uma concentração de vírus suficiente para uma boa vacina.

Aproveitam-se o baço e os gânglios dos suínos que apresentarem pelo menos 2 órgãos com lesões típicas de peste.

Os gânglios são colhidos quando pelo menos alguns se apre-sentarem lesados.

Não são colhidos os órgãos que apresentarem lesões estranhas à peste.

Na nossa técnica corrente usamos duas facas para abertura dos suínos; uma para separar a pele e outra para expor os gânglios e baço, que são colhidos por meio de pinça e tesoura estéreis e guar-dados, para preparo da vacina, em provete estéril com tampa.

PREPARAÇÃO DA VACINA

Após mistura e distribuição do sangue desfibrinado pelos ba-lões estéreis, a vacina é preparada conforme fórmula já mencionada.

O ácido fênico para preparo da água fenicada é fundido em banho-maria. Os ingredientes são misturados na ordem indicada na fórmula. A glicerina e a água fenicada podem ser misturadas com antecedência.

A nossa prática difere, entre outros fatores, da preparação, da técnica norte-americana de DORSET, continuada por Mc BRYDE e COLE (7), a qual exige que o sangue de cada suíno seja colhido em separado e que na preparação da vacina haja um balão separado para o sangue de cada porco.

A técnica por nós usada permite que, no fim da sangria, sejam misturados os sangues colhidos e a mistura para preparo da vacina seja distribuída de acordo com a capacidade dos balões.

Os haços e gânglios linfáticos colhidos dos porcos de vírus, são desembaraçados, com pinça e tesoura estéreis, do excesso de gordura que os envolve, imersos durante 5 minutos em solução de ácido fênico a 5%, lavados duas ou três vezes em água destilada estéril e passados em máquina comum de picar carne. Mede-se em provete estéril o volume da polpa obtida, mistura-se com parte da água e passa-se em seguida no "Colloid Mill", previamente esterilizado.

A limpeza do "Colloid Mill" é feita passando-se sucessivamente água de torneira, álcool-éter e água quente; e a esterilização procedida da seguinte maneira:

- 1) — solução de formol a 10%, durante 24 horas;
- 2) — água fervente, três vezes, para tirar qualquer traço de formol e, finalmente, água destilada estéril.

A polpa fina obtida no "Colloid Mill" é recebida em balão estéril. Em seguida passa-se a quantidade restante de água destilada no mesmo moinho, adicionada da proporção adequada de ácido fênico, para rehaverm-se as partículas da polpa que ainda ficaram no moinho; essa água é recebida no mesmo balão, ao qual se junta, por fim, a solução de cristal violeta, tudo nas proporções da fórmula já indicada.

Na preparação da vacina deve-se escolher produtos quimicamente puros. Os produtos comerciais dão geralmente resultados satisfatórios, mas não são aconselháveis, porquanto são falhos de uniformidade, podendo às vezes conter impurezas irritantes ou tóxicas.

A fim de verificar a existência ou não de ação irritante local ou tóxica geral dos produtos químicos que entram na confecção das vacinas de sangue e órgãos, foram efetuadas várias experimentações em cobaias.

Os produtos foram experimentados em separado e em conjunto e empregados nos vários graus de pureza com que podem ser encontrados no comércio.

Assim, de acôrdo com a porcentagem de impurezas, a glicerina empregada foi classificada em:

- a) — puríssima,
 - b) — pura,
 - c) — comercial boa,
 - d) — comercial má;
- o fenol em:

- a) — puro,
- b) — impuro.

O cristal violeta foi só experimentado no estado de pureza, o único tipo com o qual sempre trabalhamos.

A fim de verificarmos se em conjunto tinham ação diferente da que se possa constatar em separado, foram também experimentados a glicerina, o fenol e o cristal violeta juntos, produtos puros e produtos impuros.

Para ser evitada a interferência de germens, tôdas as substâncias empregadas foram esterilizadas.

A experimentação se processou do seguinte modo:

- a) — os produtos e as misturas de produtos já esterilizados foram diluídos em água destilada estéril a fim de ficarem na proporção exata com que costumam entrar nas vacinas de sangue e órgãos;
- b) — foram empregadas 4 cobaias para cada produto ou mistura de produtos, 2 injetadas por via subcutânea e 2 por via intramuscular;
- c) — a dose injetada em cada cobaia foi sempre de 1 cm³;
- d) — 4 cobaias testemunhas receberam apenas água destilada, 2 por via subcutânea e 2 por via intramuscular, 1 cm³ por cobaia.

Foram usadas ao todo 60 cobaias (tabela 16):

TABELA 16

	Produtos experimentados:	N.º de co- bais ino- culadas	Via. subcutânea		Via intramuscular	
			formação de nódulos		formação de nódulos	
			positivos	negativos	positivos	negativos
diluídos em água destilada até ficarem na proporção em que entram na vacina de sangue.	glicerina puríssima...	4	—	2	—	2
	glicerina pura	4	—	2	—	2
	glic. comercial boa ...	4	—	2	—	2
	glic. comercial má ..	4	—	2	—	2
	fenol puro	4	—	2	—	2
	fenol impuro	4	—	2	—	2
	cristal violeta	4	1	1	—	2
	juntos puros	4	—	2	1	1
	juntos impuros	4	2	—	1	1
diluídos em água dest. até ficarem na prop. da vac. de órg.	fenol puro	4	—	2	—	2
	fenol impuro	4	—	2	—	2
	cristal violeta	4	2	—	1	1
	juntos puros	4	2	—	2	—
	juntos impuros	4	2	—	2	—
test.	água destilada	4	—	2	—	2

Examinando-se o resultado das provas, verifica-se que a ação irritante resulta principalmente do cristal violeta.

Quando em conjunto, nota-se ligeira predominância de ação irritante nos produtos impuros.

A ação irritante do cristal violeta já foi mencionada por COLE (3).

CONCENTRAÇÃO DA VACINA

O sangue desfibrinado virulento que entra na confecção da vacina deve conter virus de alta qualidade.

Nestas condições, a concentração do sangue na vacina pode variar em largos limites sem que isso prejudique a capacidade antigênica do produto.

A primitiva vacina, preparada no Instituto Biológico por PENHA e D'APICE (10), continha 47,6% de sangue desfibrinado virulento em relação ao volume total; a atual vacina contém 66,6%; tivemos também ocasião de preparar vacina com 75% de sangue virulento.

Fazendo provas de eficiência comparadas da ação dessas vacinas, verificamos que os três tipos protegem na dose de 3 cm³ por via intramuscular. Isso permite indicar com perfeita segurança, na prática, a dose de 5 cm³ para qualquer destas concentrações.

Mantemos o tipo médio indicado na fórmula mencionada neste trabalho porque, ao contrário da fórmula mais concentrada ou da mais diluída, foi a que melhor resultado nos deu nas provas de dosagem da vacina (4).

Denominando:

vacina A — 47,6% de sangue virulento,

vacina B — 66,6% de sangue virulento,

vacina C — 75% de sangue virulento,

podemos resumir as nossas experiências no seguinte quadro (tabela 17):

TABELA 17

	dose (via intramuscular)			
	5 cm ³	3 cm ³	2 cm ³	1 cm ³
vacina A	+	+	±	±
vacina B	+	+	+	+
vacina C	+	+	+	±
+ = proteção total ± = proteção parcial				

Experimentando as mesmas vacinas por via intradérmica, tôdas protegeram eficazmente na dose de 1 cm³. A vacina B empregada atualmente foi dosada por via intradérmica, protegendo perfeitamente na dose de 0,5 cm³.

ESTUFA

Após o preparo a vacina é mantida na estufa a 37°C, durante 14 dias. Algumas vezes sucedeu termos deixado a vacina 15 ou 16 dias na estufa, nada havendo de anormal.

Deve-se ter o cuidado de agitá-la diariamente.

Alguns acidentes podem acontecer na estufa, que embora não comprometam o valor antigênico da vacina, devem ser evitados como medida de prudência.

O frasco 7, da partida 322, no dia de sua entrada na estufa, por inadvertência foi colocado diretamente sôbre um dos focos de calor durante 21 horas. Acusou temperatura de 48°C. Terminada a permanência de 14 dias na estufa foi submetido à prova de proteção em separado. Funcionou normalmente.

A partida 352-353, tendo-se inutilizado parte dos aquecedores da estufa, ficou 14 dias à temperatura de 35°C. Submetida a prova de proteção em suínos, nada acusou de anormal.

Algumas amostras de quatro partidas foram retiradas da estufa após 7 dias de permanência a 37°C. Submetidas a tôdas as provas, funcionaram normalmente. Consideramos ainda pequena a quantidade de provas para que o número de dias possa ser alterado em nossa técnica usual.

ESTADA FÓRA DA ESTUFA

Retirada da estufa, a vacina deveria, como regra geral, ser conservada em locais escuros e frescos; todavia não temos verificado alteração na conservação da vacina, quando deixada em locais claros à temperatura ambiente. Apenas por prudência, enquanto não tivermos dados positivos a êste respeito, não aconselhamos submetê-la prolongadamente aos raios diretos do sol.

Não há necessidade da vacina ser conservada em refrigerador.

As partidas ns.: 116 e 117, obtidas por PENHA e D'APICE, oferecem um exemplo de conservação das propriedades antigênicas, guardadas em frascos claros à temperatura ambiente.

Partida 116 — fabricada em 29/10/1941

Partida 117 — „ „ 29/10/1941

Em 1946, foram submetidas à prova de proteção. Foram injetados:

partida 116 — 2 suínos — 5 cm³; 3 suínos — 10 cm³ e 1 testemunha

partida 117 — 2 suínos — 5 cm³; 3 suínos — 10 cm³ e 1 testemunha.

Em 17/5/1946, 21 dias após a inoculação de vacina, os porcos recebem 2 cm³ de virus e em seguida são controlados termomètricamente.

PARTIDA 116

Suíno 1 — testemunha Suínos 2 e 3 — 5 cm³

Suínos 4, 5 e 6 — 10 cm³.

TABELA 18

	17/5	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	1/6	2	3
1	39,8	39,2	39,0	40,4	40,9	41,6	41,2	42,0	41,6	41,7	40,9	39,8	39,0	40,5	39,8	38,0	36,0	+
2	39,0	40,0	40,5	41,7	41,3	41,0	40,5	39,5	39,7	39,1	40,1	39,4	38,1	38,4	38,6	38,5	39,2	38,4
3	39,1	39,8	40,0	40,1	40,6	40,5	39,6	39,1	38,6	38,4	38,8	38,0	38,8	38,6	38,4	38,8	38,3	38,1
4	39,3	39,7	39,7	39,5	40,0	40,4	40,8	39,4	39,8	38,5	39,0	38,9	39,3	39,3	38,5	38,6	38,4	38,4
5	39,0	39,2	39,1	39,0	39,6	38,6	38,5	38,5	38,7	39,0	38,7	38,0	38,1	38,7	38,6	38,4	38,2	38,7
6	40,3	39,9	41,7	41,8	40,7	39,5	39,8	39,0	39,7	39,2	41,2	38,6	38,8	38,3	39,1	39,7	38,6	39,5

PARTIDA 117

Suíno 2 — testemunha

Suínos 1 e 5 — 5 cm³Suínos 3, 4 e 6 — 10 cm³.

TABELA 19

	17/5	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	1/6	2	3	4	5	6	7	8
1	39,0	39,0	39,7	38,5	39,0	39,7	39,0	38,5	38,0	37,6	37,0	38,1	38,0	37,6	38,7	37,3	38,4	37,8	38,4	38,5	37,8	38,0	
2	39,3	39,3	39,7	40,2	41,0	40,6	41,5	41,6	40,0	40,6	40,2	39,6	40,2	40,1	40,4	40,0	40,2	38,7	39,8	38,2	37,4	36,0	+
3	39,2	39,8	39,6	39,8	40,5	39,3	39,3	39,5	39,2	38,8	38,0	38,6	39,0	38,7	39,0	38,2	38,2	39,1	38,8	38,4	39,0	38,4	
4	39,1	39,0	40,8	40,0	40,3	39,0	39,2	38,7	38,5	38,9	37,9	38,2	38,7	38,6	38,2	38,4	38,3	38,6	38,3	37,8	38,2	38,6	
5	39,4	39,7	39,7	40,6	40,9	39,2	39,4	39,0	39,0	38,7	38,6	38,5	38,9	39,0	38,8	38,9	38,5	38,3	38,9	39,3	38,9	39,0	
6	39,9	39,0	39,7	40,3	41,1	41,0	40,5	40,5	39,8	39,2	39,1	38,0	38,6	38,7	38,8	38,4	38,3	39,2	38,6	38,0	38,4	38,7	

As testemunhas n.º 1 da partida 116 e n.º 2 da partida 117, morreram com lesões típicas de peste.

Estas partidas 116 e 117, conforme provas de proteção efetuadas, após terem sido conservadas em frascos de vidro claro à temperatura ambiente, durante cerca de 4 anos e 7 meses, ofereceram uma proteção eficaz.

PROVAS DA VACINA

Após retirada da estufa, a vacina deve ser submetida a três provas indispensáveis.

Por mais bem feita, e por melhor que tenham reagido os suínos inoculados, nunca é possível ter confiança numa partida sem submetê-la às necessárias provas.

As provas devem ser efetuadas para cada uma das partidas preparadas, independentemente da observação rigorosa e constante de todos os fatores que poderiam influir na eficiência do produto.

É errôneo pensar que, uma vez feita a prova satisfatória de uma das partidas, as demais fabricadas do mesmo modo podem ser dispensadas de prova.

Os porcos empregados no preparo da vacina, variam de partida para partida, embora muitas vezes procedam da mesma criação. Isso mostra que, embora todos os outros fatores sejam mantidos constantes, os porcos forçosamente têm de variar, o que obriga sempre a provar a partida antes de pô-la no comércio.

1.ª PROVA — esterilidade

Em nossa rotina de exame procedemos do seguinte modo:

- a) — agitam-se bem os vários balões de uma partida de vacina;
- b) — por meio de uma pipeta estéril, com os devidos cuidados da técnica usual, retiram-se algumas gotas de vacina de cada balão e semeam-se em meios de cultura: Tarozi e Agar inclinado (ou placa de Agar-sangue);
- c) — após 48 horas de permanência na estufa, os meios de cultura são examinados.

Achamos necessário este prazo porque 24 horas nem sempre são suficientes para o crescimento dos germens de contaminação.

Eliminam-se todos os balões contaminados. COLE (2) refere que a contaminação, mesmo por germens não patogênicos, destroi a potência da vacina.

São muito pouco freqüentes as contaminações pela nossa técnica usual. Os balões contaminados são inutilizados sem se cogitar em saber se a contaminação é por germens saprofitas ou patogênicos.

Frizamos a importância deste fato porquanto a grande preocupação dos pesquisadores norte-americanos consiste em evitar a contaminação da vacina. Uma das principais dificuldades técnicas, pelo que se depreende dos trabalhos norte-americanos, consiste na obtenção de vacinas estéreis.

É o seguinte o resultado das provas de esterilidade das vacinas preparadas e controladas em 1946 e 1947, até Julho, no Instituto Biológico de São Paulo (tabela 20):

TABELA 20

	N.º de partidas	N.º total de balões	N.º de balões contaminados	Porcentagem de contaminações
Vacina de sangue	61	297	1	0,33%
Vacina de órgãos	61	104	5	4,80%

O único balão com vacina de sangue contaminado refere-se ao frasco 6 da part. 342. O sangue desfibrinado foi guardado em geladeira até o dia seguinte, ocasião em que foi preparada a vacina.

As contaminações da vacina de órgãos deixaram praticamente de aparecer, quando o baço e os gânglios passaram a ser imersos em fenol a 5% durante 5 minutos, antes do preparo. Esta operação não prejudica a potência da vacina.

2.ª PROVA — inocuidade

É efetuada em cobaias, a fim de verificar se na composição da vacina não entraram produtos nocivos.

Colhem-se amostras dos vários balões estéreis da vacina, misturam-se e injeta-se, em 2 cobaias, 1 cm³ por cobaia, na face interna da coxa, sendo uma por via subcutânea e outra intramuscular.

Faz-se a observação durante 10 dias. Tolera-se apenas pequena reação inflamatória local.

Na cobaia observamos um interessante fato: a via intramuscular é preferível à subcutânea, o que nos levou a confirmar a recomendação da via intramuscular ao injetar a vacina na prática da imunização em suínos.

Embora apenas experimentando vacinas estéreis, por via subcutânea, notamos às vezes formação de nódulos inflamatórios, o que só muito raramente é observado na via intramuscular.

Em 106 cobaias examinadas, provas de várias partidas, verificamos (tabela 21):

TABELA 21

	Negativo	Formação de nódulos inflamatórios
Via subcutânea	29	24
Via intramuscular	52	1

Os nódulos regridem e desaparecem, findo algum tempo. Não verificamos mortes de cobaias nas provas de inocuidade por nós efetuadas.

3.^a PROVA — proteção

Esta prova é efetuada do seguinte modo: tira-se uma amostra de cada balão da partida; a quantidade de cada amostra é proporcional ao volume do balão. Misturam-se as amostras.

Toma-se certo número de porcos sensíveis, os quais devem ter as mesmas características dos porcos para o fabrico da vacina.

Ordinariamente usamos numa prova 7 suínos, que são numerados e assim distribuídos:

3 porcos recebem 5 cm³ de vacina

3 „ „ 3 cm³ „ „

1 porco testemunha não recebe vacina.

A vacina é aplicada por via intramuscular, na região posterior da face interna da coxa. Não se verificam acidentes por êste processo, uma vez que se use a devida assepsia com a seringa e agulha e que a região escolhida sofra a necessária antissepsia (usamos álcool iodado a 5%).

Êstes porcos são postos em pocilgas desinfetadas com leite de cal (a 5%) e soda cáustica (a 2%), longe de qualquer contacto com os porcos de virus ou soro.

Aguardam-se 21 dias, tempo considerado como fase negativa.

A rigor, pode-se dizer que ao fim de 12 dias começa a estabelecer-se a imunidade e aos 15 dias já quase todos estão imunes; mas alguns retardam um pouco, e, por êsse motivo, fixou-se o prazo de 21 dias para a fase negativa.

COLE (3) admite que aos 7 dias começa a estabelecer-se a imunidade. Mas antes de 3 semanas os suínos apresentam severas reações ao virus, fato que faz na realidade considerar 21 dias como intervalo de fase negativa.

Após êsse periodo, os suínos são levados para outra pocilga, onde todos recebem 2 cm³ de virus, via intramuscular.

Ê feito o controle termométrico dêsses suínos durante 21 dias.

A testemunha deve morrer e os vacinados resistir.

Devem resistir todos os suínos que receberam 3 cm³, para que a vacina possa ser empregada na prática na dose de 5 cm³. Resistindo só os de 5 cm³ recomenda-se na prática dose de 10 cm³.

Não é suficiente que os vacinados resistam e estejam vivos no fim da prova; é necessário que não apresentem elevação térmica

muito prolongada, embora possam restabelecer-se.

Uma análise dos controles termométricos de provas de proteção de centenas de partidas mostrou-nos que as boas partidas, aplicadas nos suínos, dão apenas uma reação térmica fugaz ou quase nenhuma reação, quando se injeta o vírus. Os animais não perdem o apetite nem a disposição durante o controle.

As partidas fracas produzem, após a injeção de vírus, uma reação térmica prolongada, podendo os suínos resistir quando a partida possui alguma capacidade antigênica, embora apresentem durante muitos dias severas reações clínicas.

Em geral escolhem-se como porcos de prova animais vigorosos e sadios, que são mantidos em abrigos higiênicos com boa alimentação.

Na prática de campo esta vacina é às vezes aplicada em suínos debilitados por verminoses e outras doenças, em péssimas condições de higiene e alimentação, devendo êsses animais ser imunizados com vacina extremamente potente, para que possam resistir quando a peste invadir a criação.

A importância do número de dias de reação febril na prova de proteção ficou evidenciada após os acidentes práticos surgidos na aplicação da partida ns. 242-243.

Esta partida, como tôdas as demais, sofreu as necessárias provas e foi julgada satisfatória. Aplicada em algumas criações, chegaram mais tarde notícias de que estava falhando na prática.

Fazendo um cuidadoso inquérito, verificamos o seguinte:

a) — nos locais onde morreram muitos porcos vacinados, houve falhas graves na aplicação da vacina, confiada a leigos;

b) — nos locais onde a vacina foi aplicada por veterinários, morreram, quando a peste surgiu na criação, apenas os animais muito novos e os adultos debilitados por verminoses ou por outras moléstias intercorrentes.

Como tôda partida de vacina deve ser rigorosamente controlada nas provas, no fim destas os porcos vacinados devem estar vivos e perfeitamente sadios. Compreende-se também que estas provas devam apresentar um quadro de temperaturas, onde não se notem ascensões térmicas prolongadas.

Na prática corrente de preparo de vacina a nossa experiência permitiu fixar em 5 dias o máximo de reação térmica admissível para cada animal no lote de suínos de prova. Em um ou outro admitem-se até 6 dias. Consideramos temperatura, elevação térmica

acima de 40°C. Nessas condições, uma partida de vacina que apresentar reações térmicas acima do limite estabelecido será inutilizada, embora todos os suínos estejam vivos no fim da prova.

PARTE FINAL

Em Maio de 1947, após uma série de estudos e verificações, a prova de proteção foi modificada.

D'APICE, PENHA e CURY (5 e 6), iniciando suas observações em outubro de 1946, verificaram que a vacina de cristal violeta preparada pela técnica do Instituto Biológico, quando injetada por via intradérmica, na dose de 1 cm³, protege contra uma inoculação de vírus pestoso, altamente ativo, aplicada após 21 dias.

BOYNTON, WOODS, WOOD e CASSELBERRY, em 1942 (2) e COLE, em 1943 (3) ensaiaram o uso da vacina contra a peste, por via intradérmica, os primeiros com resultados razoáveis e o segundo com resultados menos encorajadores, mas não prosseguiram em suas investigações.

Introduzindo modificações nos métodos clássicos de aplicação, notaram D'APICE, PENHA e CURY que a via intradérmica deixou de ser apenas uma aquisição de valor científico restrito, podendo ser divulgada e entregue não só a técnicos como também a leigos, após curta aprendizagem.

Técnica da aplicação por via intradérmica

Material: — A seringa deve ser de pequena capacidade, onde se torne mais clara a leitura de 1 cm³; de boa pressão, característica necessária na via intradérmica, e de bico, onde se adapta a agulha, bastante resistente, para evitar quebra por um movimento brusco do animal.

Aconselhamos o uso de seringas metal-vidro, tipo Record, de 2 a 5 cm³ de capacidade.

A agulha usada é de cano de 2 calibres, a parte anterior do cano tem 0,6 mm de espessura externa e 7 mm de comprimento com bisel curto, a parte posterior, de 1 a 1,2 mm de espessura externa e 8 mm de comprimento.

A parte anterior da agulha é a que se introduz na pele; a posterior serve apenas de reforço.

Contenção do suíno: — Usa-se um aparelho formado por um bastão de madeira forte, roliço, mais ou menos de 3 cm de diâmetro e 50 cm de comprimento; faz-se um orifício transversal a 3 cm da ponta; por êsse orifício passam uma ou duas tiras

de couro, geralmente três tiras finas trançadas, amarradas nas pontas, formando argola, aproximadamente de 12 cm de diâmetro; na outra ponta do páu far-se-á o mesmo; somente a argola terá cerca de 15 cm de diâmetro. A argola pequena usa-se para leitões e a maior para suínos adultos.

Aparelho semelhante a êsse, com uma argola, é conhecido já há muito tempo dos criadores de equinos e muares, sendo comumente designado com o nome de “cachimbo” ou “pito”.

Aproveitando-se o fato de, quando agarrados, os suínos abrirem a boca para berrar, um auxiliar segura o aparelho pelo cabo de madeira e introduz a argola de couro na boca do suíno, por traz dos dentes caninos, e torce o cabo algumas vezes, prendendo fortemente a argola em torno do maxilar superior.

Os demais auxiliares largam o suíno, que se manterá de pé e cuja única tendência será então recuar. O auxiliar que segura o cabo de madeira contrariará o animal com pequeno impulso; o suíno manter-se-á imóvel, permitindo fácil aplicação da vacina.

Local da injeção: — Após várias verificações, foi escolhida a face externa da ponta da orelha como melhor local para injeção intradérmica nos suínos.

Estudos histológicos efetuados mostraram que essa região só possui tecidos epitelial e cartilaginoso. Só havendo pele e cartilagem, os erros de aplicação são reduzidos ao mínimo ou, melhor, são praticamente inexistentes.

Considerando-se que a ponta da orelha do suíno forma ângulo, imagine-se uma linha que, cruzando transversalmente a orelha, forma com êsse ângulo um triângulo de lados iguais. A face externa da orelha no centro dêsse triângulo é o local escolhido.

Aplicação da injeção: — Contido o suíno, o operador, como os dedos polegar, indicador e médio da mão esquerda, puxa a orelha, esticando suficientemente a pele. A agulha virada de bisel para cima, bem fixada na seringa, é introduzida na pele na região determinada e em seguida empurrada vagarosamente de modo que, dentro da pele, ela corra paralelamente à superfície, sem atravessar a pele para fora ou para dentro. Introduz-se toda a parte fina anterior da agulha. O operador fixa então a agulha e a orelha entre o polegar, indicador e dedo médio, e com a outra mão manobra a seringa, injetando lentamente a vacina.

Quando a injeção é intradérmica, o operador sente certa resistência no êmbolo da seringa; forma-se uma bolha dura, saliente,

bem delimitada, que cresce à medida que se injeta, notando-se que os poros da pele se afastam e tornam-se nítidos. Nos animais de pele branca ou muito clara, nota-se por transparência a coloração da vacina.

Injetando-se debaixo da pele, vê-se também formação de uma bolha, mas neste caso a bolha formada não é dura, tem limites menos precisos, desaparece facilmente pela massagem e sente-se que o êmbolo da seringa não oferece resistência apreciável.

Feita a injeção o operador retira a agulha, apertando por alguns segundos o orifício deixado na pele, para evitar um possível refluxo de líquido.

Prova de proteção atualmente em uso

A vacinação por via intradérmica, pela técnica descrita, tornou-se de fácil aplicação pelos criadores leigos após pequena aprendizagem, deixando de ser aquisição científica de aplicação restrita. Tornou-se então necessário que a prova de proteção da vacina fôsse modificada, nela se introduzindo a via intradérmica.

Usamos atualmente, para cada partida de vacina, na prova de proteção, 10 suínos, que são numerados e assim distribuídos:

2 suínos	1/2 cm ³	— via intradérmica
1 suíno	1/2 cm ³	— via subdérmica
2 suínos	1 cm ³	— via intradérmica
1 suíno	1 cm ³	— via subdérmica
3 suínos	3 cm ³	— via intramuscular
1 suíno		— testemunha, não recebe vacina.

Êstes suínos são mantidos durante 21 dias em pocilgas desinfetadas, longe de quaisquer suínos de vírus ou soro.

A fase negativa da via intradérmica, verificada experimentalmente, é praticamente igual à da via intramuscular. (5)

Após 21 dias todos os suínos são transferidos para outra pocilga e recebem 2 cm³ de vírus por via intramuscular.

É feito o controle termométrico durante 21 dias. A testemunha deve morrer e os vacinados resistir. Não morrendo a testemunha, a prova é repetida com outros suínos.

Uma das objeções que poderiam ser aventadas a propósito da via intradérmica seria a do criador poder introduzir a agulha e injetar a vacina entre a pele e a cartilagem; todavia neste caso lembramos que como a cartilagem praticamente não absorve, a vacina só poderia ser absorvida por via dérmica e protegeria o suíno.

Esta afirmação baseia-se em dados experimentais.

Nas nossas provas sistemáticas para cada partida de vacina, num dos suínos injetados com $\frac{1}{2}$ cm³ e num dos injetados com 1 cm³, a vacina é introduzida entre a pele e a cartilagem.

Denominamos esta via de subdérmica, para diferenciá-la da verdadeira via intradérmica e da via subcutânea, porquanto embora a vacina seja neste caso introduzida sob a pele, entre esta e a cartilagem, não será igual à subcutânea, dada a disposição anatômica da ponta da orelha dos suínos.

Exigimos proteção de 100% na prova, tanto na via intramuscular com 3 cm³, como na via intradérmica, nas doses de $\frac{1}{2}$ e de 1 cm³, e na via que convencionamos chamar subdérmica com $\frac{1}{2}$ e com 1 cm³, para que a vacina possa ser usada na prática.

A vacina usada na via intramuscular é a mesma empregada por via intradérmica, apenas para que passe facilmente em agulha fina, antes da embalagem a partida de vacina é filtrada através da série de tamizes standard norte-americanos até o tamiz n.º 80. Evita-se assim que pequenos fragmentos de fibrina do sangue, ou de polpa de órgãos, possam entupir as agulhas de injeção empregadas.

Prova de proteção da Partida n.º 376:

Vacinação (5/8/1947): — suínos numerados — Pocilga 24.

suínos 1 e 2 — $\frac{1}{2}$ cm³ intradérmico

suíno 3 — $\frac{1}{2}$ cm³ subdérmico

suínos 4 e 5 — 1 cm³ intradérmico

suíno 6 — 1 cm³ subdérmico

suínos 7, 8 e 9 — 3 cm³ intramuscular

suíno 10 — testemunha, não recebe vacina.

Virus (26/8/1947): 2 cm³ de virus "São Paulo" por via intramuscular em cada suíno.

Pocilga 53

Controle termométrico (tabela 22):

Os suínos vacinados resistiram perfeitamente e a testemunha morreu. A reação febril dos suínos vacinados ficou muito aquém do limite tolerado.

Esta vacina foi considerada eficiente, sendo indicadas as seguintes doses na prática:

1 cm³ via intradérmica ou 5 cm³ via intramuscular.

TABELA 22

	26/8	27	28	29	30	31	1/9	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	39,7	39,5	39,3	39,4	39,0	40,4	38,5	39,1	38,5	39,0	39,2	39,3	39,3	38,7	39,5	39,9	39,1	38,7	39,4	38,9	38,5
2	40,0	38,2	38,6	38,8	39,1	38,5	38,4	40,3	39,7	40,5	40,0	39,0	38,6	38,6	38,5	38,7	38,5	38,0	38,5	38,5	39,0
3	40,0	39,0	38,9	39,8	39,2	38,9	38,7	39,3	39,0	39,5	39,0	38,7	39,6	39,2	39,5	39,3	39,3	39,0	38,9	39,2	39,0
4	40,0	40,0	39,5	40,0	40,7	39,0	39,0	39,5	39,5	38,7	41,0	39,5	39,3	39,5	39,2	39,3	39,3	39,2	38,9	38,9	39,6
5	39,4	39,1	39,4	38,6	38,2	38,5	38,0	38,8	38,7	39,7	39,5	39,4	39,5	39,3	39,0	39,0	39,2	38,9	39,5	39,0	38,5
6	39,8	40,0	38,9	39,0	38,9	39,3	39,1	39,6	40,6	40,2	39,5	38,8	39,4	39,3	38,5	38,6	38,5	38,7	38,7	39,0	38,0
7	39,6	40,0	38,8	40,0	39,5	40,5	39,8	39,8	40,5	40,4	40,5	40,0	40,0	40,0	39,7	40,3	39,5	39,5	39,0	39,0	38,9
8	40,1	39,6	39,0	39,3	39,2	39,2	39,0	38,6	39,2	39,5	39,0	39,0	39,6	39,5	39,5	39,5	39,0	39,3	38,6	39,5	39,5
9	39,3	39,1	38,2	39,2	39,8	40,3	39,0	39,5	39,9	39,5	39,0	39,0	39,2	39,5	39,0	39,3	38,5	38,9	39,2	39,0	38,5
10	39,8	40,7	39,5	41,5	40,6	40,2	41,5	41,2	41,0	41,0	40,0	40,5	+	-	-	-	-	-	-	-	-

CONCLUSÕES

Na obtenção da vacina de cristal violeta contra a peste suína é necessário observar as seguintes condições:

- 1) — preparar a vacina com porcos “enxutos”, sadios e novos, de preferência suínos do chamado “tipo carne”;
- 2) — suínos vacinados contra a peste, mesmo que o sejam com produto ineficiente, não servem como porcos produtores de sangue virulento;
- 3) — num lote de suínos vacinados, embora com vacina de pouca eficiência não adianta escolher os que apresentaram alta curva febril após inoculação de vírus;
- 4) — os suínos inoculados com soro só poderiam ser usados no preparo de vacina ao menos 6 meses após a injeção.
- 5) — os porcos que já tiveram peste e restabeleceram-se, não servem para o preparo de vacina;
- 6) — os porcos sensíveis dão boa ascensão térmica com o vírus da peste e seu sangue, quando eles não são imunes, produz, não havendo outras causas de erro, uma boa vacina;
- 7) — não recomendamos a colheita de vírus de porcos mal vacinados, que estejam doentes de peste;
- 8) — toda nova amostra de vírus deve ser provada e ao mesmo tempo ativada, antes de com ela se procederem inoculações para o preparo de vacina;

- 9) — a esterilidade das amostras de virus não é necessária, uma vez que a contaminação seja por germens não patogênicos e a via de inoculação intramuscular;
 - 10) — nas inoculações e provás, usar dose de 2 cm³ de virus, por via intramuscular;
 - 11) — o controle termométrico, após inoculação do virus, é absolutamente necessário. As temperaturas individuais e as dos lotes constituem precioso índice do provável funcionamento da partida;
 - 12) — os suínos inoculados com virus devem ser sacrificados no 7.º dia completo, após a inoculação;
 - 13) — não é aproveitado o sangue de suínos que mostrarem lesões de tuberculose ou moléstias septicêmicas;
 - 14) — os órgãos de interesse no preparo da vacina: baço e gânglios, são colhidos quando não apresentarem lesões estranhas à peste e quando o suíno apresentar pelo menos lesões típicas de peste em dois órgãos diferentes;
 - 15) — no preparo da vacina, escolher produtos quimicamente puros;
 - 16) — deve-se ter cuidado de agitar a vacina diariamente, enquanto permanecer na estufa;
 - 17) — não há necessidade de conservar a vacina em vidros escuros e em baixa temperatura; contudo não se deve expô-la prolongadamente aos raios diretos do sol;
 - 18) — após retirada da estufa, a vacina deve ser submetida a três provas indispensáveis:
 - prova de esterilidade — em meios de cultura
 - prova de inocuidade — em cobaias
 - prova de proteção — em suínos;
 - 19) — é absolutamente necessário que as provas sejam feitas individualmente para cada partida de vacina preparada;
 - 20) — é indispensável que uma partida de vacina ofereça provas de esterilidade e inocuidade perfeitas e que seja extremamente potente nas provas de proteção em suínos, para que possa com segurança ser empregada na prática.
-

VACCINE AGAINST HOG CHOLERA
TECHNIQUE OF PREPARATION. FACTORS WHICH INTERFERE WITH
ITS EFFICIENCY. IMMUNIZATION BY INTRADERMAL ROUTE.

A b s t r a c t

The crystal violet vaccine against hog cholera is prepared in the "Instituto Biológico" of São Paulo according to Penha and D'Apice's technique. The original formulae were slightly modified as to the proportion of the substances employed, and now they are as follows:

<i>a) blood vaccine</i>	
<i>defibrinated infected blood</i>	<i>1,000</i>
<i>glycerin</i>	<i>250</i>
<i>1.5% sol. of carbolic acid in distilled water</i>	<i>100</i>
<i>crystal violet, 0.5% sol.</i>	<i>150</i>
	<i>1,500 cc</i>
<i>b) tissue vaccine</i>	
<i>finely ground pulp of infected spleen and lymph nodes</i>	<i>100</i>
<i>0.75% sol. of carbolic acid in distilled water</i>	<i>200</i>
<i>crystal violet, 0.5% sol.</i>	<i>30</i>
	<i>330 cc</i>

Every lot of the vaccine is tested for sterility in cultures and for innocuity by guinea pig inoculation. Its effectiveness for the protection against swine fever is tested in pigs. Both animal tests are made with the vaccine in its final form — namely a mixture of the blood plus tissue vaccines made from the same lot of pigs.

The present paper analyzes the various phases in the production of this type of vaccine. We attempted to uncover those situations which might impair the effectiveness of a batch of vaccine in order that a uniformly high efficiency be obtained.

As fundamental factors for the efficacy of the vaccine, we may refer: the use of pigs which are highly sensitive to hog cholera, the use of a fresh and perfectly active virus, procuring the blood and organs from pigs which show good temperatures and are free from other diseases, and complete testing of each batch of vaccine.

In 1946, D'Apice, Penha and Cury found out that the crystal violet vaccine prepared at the "Instituto Biológico" of São Paulo can also be applied by the intradermal route with excellent results.

The dose used in practice is 1 cc. The use of this method by technicians and breeders was made possible through fulfilment of the following requirements: suitable syringes and needles, satisfactory restraint of the animal and injection of the vaccine in the correct place (external margin of the ear).

Before its delivery to the breeders, each batch is tested in the following doses: 1/2 and 1 cc (by intradermal route) and 3 cc (intramuscular route). All of the vaccinated pigs must resist the inoculation of virus 21 days later, and the control (non vaccinated animal) must die of hog cholera.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — BOYNTON, W. H. — 1933 — A tissue vaccine for Hog Cholera. *Jour. Am. Vet. Med. Ass.*, 83: 747-763.
 - 2 — BOYNTON, W. H., G. M. WOODS, F. W. WOOD and N. H. CASSELBERRY — 1942 — Immunological studies with Hog Cholera tissue vaccine. *Vet. Med.*, 37: 214-216.
 - 3 — COLE, C. G. — 1943 — Experiments with crystal-violet vaccine for the prevention of hog cholera. *The Iowa Veterinarian*. December. (Cópia fotostática).
 - 4 — COLE, C. G., R. R. HENLEY and E. D. HUBBARD — 1946 — Concentration of hog cholera virus in the blood of artificially infected swine at different stages of the disease. *Jour. Am. Vet. Med. Ass.*, 108: 143-147.
 - 5 — D'APICE, M., A. M. PENHA e R. CURY — 1946 — Vacinação contra a Peste Suína, com vacina de cristal violeta por via intradérmica. *Bol. Soc. Paul. Med. Vet.*, 7: 262-267.
 - 6 — D'APICE, M., A. M. PENHA and R. CURY — 1947 — Vaccination against Hog Cholera with crystal violet vaccine by the intradermic route. *Journ. Am. Vet. Med. Ass.*, (entregue para publicação).
 - 7 — DAVID, W. — 1931 — Untersuchungen über das Verhalten des Schweinepestvirus bei Fäulnis und Antrocknung. *Berliner Tierärztliche Wochenschrift*, 47: 17-23.
 - 8 — MCBRYDE, C. N. and C. G. COLE — 1936 — Crystal-violet vaccine for the prevention of hog cholera: progress report. *Jour. Am. Vet. Med. Ass.*, 89: 652-663.
 - 9 — PENHA, A. M. — 1934 — Casos de peste dos porcos observados em São Paulo. *Arch. Inst. Biol.*, S. Paulo, 5: 137-141.
 - 10 — PENHA, A. M. — 1940 — Vacinação na peste suína com polpa de baço tratada pelo cristal violeta. *Arq. Inst. Biol.*, S. Paulo, 11: 339-346.
 - 11 — PENHA, A. M. e M. D'APICE — 1942 — Vacinação contra a peste suína, com vacina mista de sangue e baço tratados pelo cristal violeta. *Arq. Inst. Biol.*, S. Paulo, 13: 217-231.
-

IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA BROCA DO CAFÉ "HYPOTHENEMUS HAMPEI (FERR.)" NO ESTADO DE S. PAULO

POR

A. A. de Toledo

Do Instituto Biológico de S. Paulo

O problema suscitado pela broca do café — *Hypothenemus hampei* (FERR.) — é de tal magnitude e complexidade que, embora estudado sob vários aspectos como tem sido, apresenta contudo outros, que continuam carecendo de melhor elucidação. Nesses se enquadra o da importância econômica da praga. Sabe-se, é verdade, que os danos materiais acarretados às safras pela broca, anualmente, são susceptíveis de variação, não só de zona para zona, como, de ano para ano, pela ação dos respectivos climas ou variações meteorológicas sobre o inseto, já favorecendo, já limitando a sua proliferação. Não obstante, economicamente e de modo geral, pouco se sabe quanto ao que esses estragos materiais representam para a cafeicultura paulista.

O objetivo deste trabalho é, pois, relacionar o conhecimento da extensão dos danos materiais acarretados anualmente pela broca, com o da sua significação econômica.

Com prazer manifestamos nossos agradecimentos aos colegas C. Fraga Junior e G. P. Viegas, pelos valiosos auxílios recebidos, e também ao Snr. J. Pires Neto, pelas informações relativas à parte comercial, assim como a todos de cujo concurso esses estudos dependeram.

MATERIAL E MÉTODO

As experimentações relatadas neste trabalho foram iniciadas em 1943, com um ensaio preliminar, e repetidas em maior escala em Junho de 1944 e 1946.

A interrupção das observações em 1945 foi motivada pelos efeitos da grande seca havida durante o segundo semestre de 1944 sobre a população da broca. A redução da praga foi de tal monta que, esse ano, praticamente, não houve café broqueado.

O material estudado em 1943 e 1944 foi coletado nos cafezais da Fazenda Experimental Mato Dentro, do Instituto Biológico, e da Fazenda Santana, ambas situadas no município de Campinas. Em 1946, foram estudados, separadamente, mais dois lotes de material, um colhido no cafezal da Fazenda Experimental Santa Eliza do Inst. Agrônômico, e o outro num cafezal situado no município de Cafelândia.

O volume de cada amostra estudada em 1943 variou entre 10 e 15 litros de frutos retirados de um número variável de cafeeiros.

Verificadas, porém, a possibilidade e conveniência de se reduzir o volume de cada amostra sem prejuízo dos resultados, o volume das amostras estudadas, em 1944 e 1946, foi reduzido daquele para o limite máximo de dois litros.

Para que a infestação existente no ato da colheita do material não fosse alterada por ataque posterior, ao mais tardar 4 horas depois de colhidas, as amostras foram expurgadas com bissulfureto de carbono, durante 24 horas.

A seca do material foi feita a pleno sol e igualada a sombra.

Concluída esta fase preliminar de preparo do material, para se determinar o grau de infestação das amostras, cada uma foi desmembrada em duas partes: uma constituída pelos frutos sãos e a outra pelos frutos broqueados; eliminando-se, nessa ocasião, os frutos chochos de ambas.

O grau de infestação foi calculado, inicialmente, em base volumétrica, mas dada a dificuldade de se poder, a rigor, determinar o volume do café com casca, preferimos substituí-la pela base numérica. A fórmula empregada para os cálculos foi:
$$\frac{Fb \times 100}{Fb + Fs}$$
, na qual Fb representa o número de frutos broqueados e Fs o de frutos sãos.

Conhecida a porcentagem de frutos broqueados de cada amostra, procedeu-se, a seguir, a operação de beneficio do material, anotando-se separadamente, em cada caso, o rendimento em café beneficiado da parte sã e o da parte broqueada. Quanto a esta parte convem esclarecer que o material estudado em 1943 foi beneficiado numa máquina de dimensões excessivas em relação ao volume das amostras. Em consequência o material não pôde ser aproveitado integralmente nem analisado na extensão desejada. Para evitar que tal fato se repetisse nos anos subsequentes, prefe-

rimos prosseguir as observações com amostras menores, cujo benefício fosse possível com o emprego de uma máquina manual.

Concluído o benefício, e afinal conhecidos, de um lado, o grau de infestação de cada amostra, e, de outro, o seu rendimento total em café beneficiado, este foi, por sua vez desmembrado por processo também manual, em três categorias: café escolha, café broqueado e café normal.

A estimativa do número de defeitos introduzidos no café beneficiado pela broca foi feita pela contagem das sementes broqueadas existentes em 300 gr de café, segundo a praxe comercial; representando cada 5 sementes um defeito.

As cotações em que nos baseamos para a estimativa da importância econômica da praga, expressa em cruzeiros, foram fornecidas por pessoa idônea e diretamente ligada a esse ramo de atividade comercial.

A avaliação do café foi feita segundo o aspecto das amostras, na seguinte ordem, por saco de 60 Kg: café normal Cr\$ 300,00, broqueado oriundo de material com infestação até 40%, Cr\$ 270,00; broqueado oriundo de material com infestação entre 40 e 100%, Cr\$ 240,00 e Cr\$ 180,00 para a escolha em geral.

Nessa base, o rendimento de um café com 50% de frutos broqueados por exemplo, valerá: parte normal Cr\$ 300,00; parte broqueada Cr\$ 240,00 e a de escolha Cr\$ 180,00.

A importância econômica da broca, como veremos, manifesta-se sob aspectos tão diversos que o estudo geral da questão só é possível se feito por partes.

Seguindo este critério, no presente trabalho serão apresentadas e analisadas, uma por vez, segundo o grau de infestação do material, as seguintes modalidades de danos acarretados pela praga:

- 1º percentagem de café totalmente destruído;
- 2º " " " transformado em escolha;
- 3º " " " broqueado;
- 4º " " " normal;
- 5º encarecimento do custo da catação manual;
- 6º encarecimento do trato cultural dos cafezais;
- 7º estimativa da importância econômica da broca, expressa em cruzeiros.

PORCENTAGEM DE CAFÉ DESTRUÍDO PELA BROCA

A estimativa da percentagem de café destruído pela broca a

cada nível de infestação, em geral, foi baseada na desproporção verificada entre os rendimentos das partes sã e broqueada integrantes de cada amostra, em café beneficiado. Além do fator broca, outros, como os frutos chochos, por exemplo, podem também ocasionar a referida desproporção, porem dentro de limites muito aquém do que a ocasionada pela broca. Contudo procuramos minorar ainda mais a interferência desses frutos, eliminando-os das amostras.

Por isso, qualquer desproporcionalidade verificada entre os rendimentos das duas partes de uma mesma amostra pode ser, com boa margem de segurança, atribuída ao fator broca.

Adotado este critério, o cálculo da porcentagem de café destruído, em si, cinge-se a uma proporção simples.

Representando-se por:

F S — o número de frutos sãos;

F B — o número de frutos broqueados;

R s — o rendimento dos frutos sãos;

R b — o rendimento dos frutos broqueados; e por

P — o peso da quantidade de café destruído, podemos melhor esclarecer a marcha dos cálculos efetuados.

No caso de uma amostra com 50% de frutos broqueados, por exemplo, na qual $FS = FB$, é evidente que o rendimento Rs é maior do que o Rb , de uma quantidade P de café destruído pela broca.

Podemos, pois, estabelecer a proporção seguinte: se FS de uma amostra rendeu Rs , quanto renderiam as duas partes $FS + FB$, se ambas fossem constituídas exclusivamente de frutos sãos? Logicamente $Rs + Rb + P$. Mas, como a amostra, por ser broqueada, rendeu apenas $Rs + Rb$, a quantidade P de café destruído pela broca é, portanto, igual à diferença entre os rendimentos esperados $Rs + Rb + P$ e o observado $Rs + Rb$. Onde $(Rs + Rb + P) - (Rs + Rb) = P$.

Verificado, assim, o peso da parte de café totalmente destruído pela broca, determinou-se, a seguir, pela fórmula $P \times 100 / (Rs + Rb)$, em cada caso, o que P representava em porcentagem do rendimento total da amostra.

Dos estudos realizados em 1943-44 e 46, sobre esta modalidade de prejuízo determinado pela broca, resultaram os dados figurados na tabela 1.

TABELA 1

Peso do café destruído pela broca, segundo a infestação expresso em porcentagem do rendimento observado

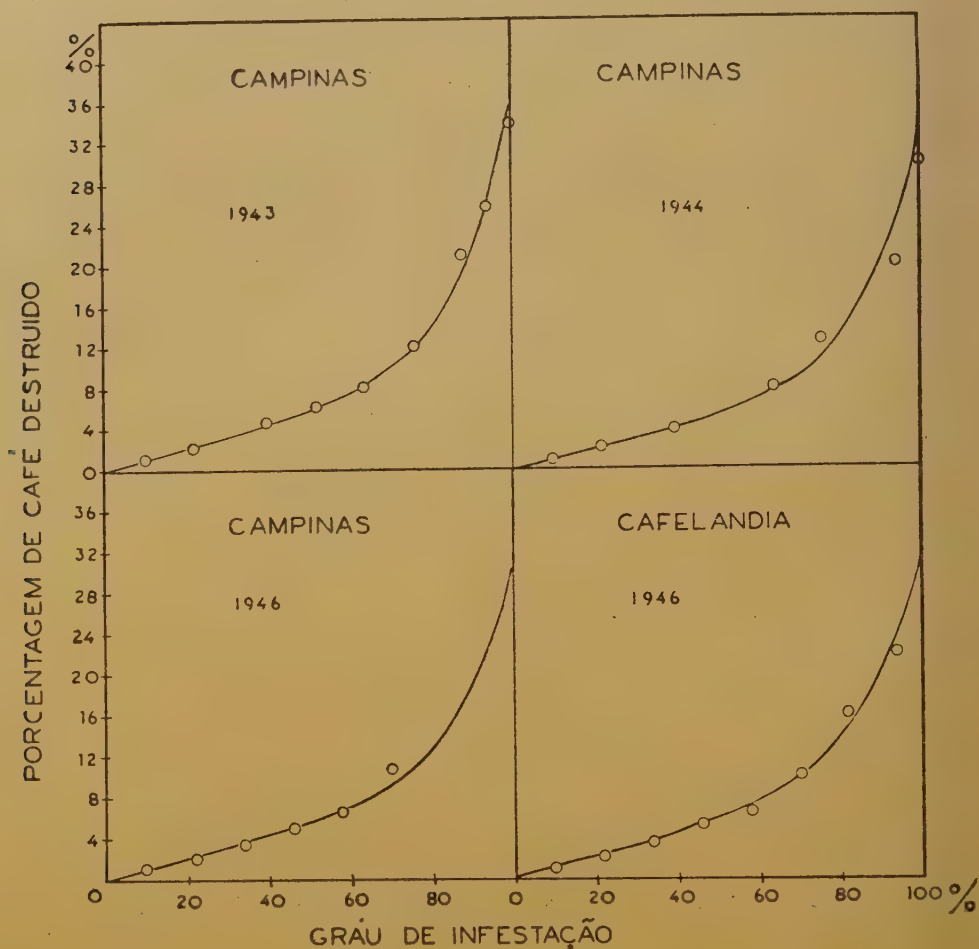
Grau de infestação	CAMPINAS						CAFELÂNDIA		Média Geral das observações	
	1943			1944			1946		Obs.	Esp.
	Obs.	Esp.		Obs.	Esp.		Obs.	Esp.		
4	0,402	0,339	0,437	0,436	0,424	0,361	0,575	0,601	0,407	0,415
10	1,140	1,014	1,023	1,017	1,069	1,034	1,236	1,220	1,009	1,058
16	1,692	1,693	1,233	1,603	1,719	1,727	1,588	1,847	1,928	1,707
22	2,206	2,380	2,246	2,197	3,377	2,271	2,262	2,486	2,556	2,365
28	2,926	3,079	2,611	2,805	3,083	3,395	2,975	3,143	2,862	3,036
34	3,575	3,799	3,437	3,432	3,740	3,500	3,585	3,827	3,513	3,730
40	4,371	4,551	3,900	4,093	4,461	4,092	4,068	4,552	4,029	4,459
46	5,098	5,352	4,357	4,804	5,228	5,024	5,251	5,338	4,834	5,241
52	6,438	6,236	5,497	5,595	6,067	5,485	6,031	6,217	5,825	6,109
58	6,714	7,250	—	6,515	7,015	6,613	6,391	7,235	6,598	7,110
64	8,250	8,476	8,175	7,636	8,133	7,935	9,310	8,462	8,495	8,319
70	10,940	10,037	10,800	9,083	9,510	10,938	12,716	10,006	10,498	9,857
76	12,000	12,136	—	11,031	11,283	11,648	15,346	12,018	13,567	11,909
82	17,900	15,100	13,500	13,786	13,672	—	16,103	14,742	15,968	14,767
88	21,120	19,518	—	17,725	17,550	—	17,190	18,537	17,845	18,890
94	25,946	26,009	20,000	23,286	22,504	—	21,782	24,060	22,674	24,995

Comparando-se os dados obtidos em 1943 (tabela 1) com os correspondentes verificados nos anos posteriores, em Campinas e em Cafelândia, nota-se entre eles pequena discrepância.

Relativamente ao crescimento das porcentagens de café destruído é interessante notar que até ao nível de 45% de infestação, elas crescem em ordem diretamente proporcional ao aumento da infestação; e que, deste ao limite máximo de 100%, elas crescem segundo uma regressão curvilínea, gráfico 1.

GRÁFICO 1

Ordem anual de crescimento das porcentagens de café destruído pela broca, segundo a infestação.



Quanto à expressão matemática do crescimento das porcentagens de café destruído, dentre as diversas equações usuais experimentadas, uma, da fórmula $Esp = a + bx + Ce^{dx}$, onde Esp é a

porcentagem de café destruído, x a infestação observada e e a base do sistema de logaritmos neperianos, foi a que melhor satisfaz a solução procurada.

Esta equação fornece, quando x e e são substituídos pelos respectivos valores, uma série que, satisfatoriamente, representa a série de porcentagens observadas.

Os dois primeiros termos da expressão foram calculados pelo método dos mínimos quadrados aplicado ao valor dos prejuízos relativos às infestações compreendidas entre zero e 45%.

O logaritmo da diferença entre estes valores para as infestações compreendidas entre 45 e 100% e os valores calculados a partir dos dois primeiros termos, foi empregado, para o cálculo, pelo mesmo método, do último termo, exponencial, da referida expressão.

Esclarecida essa faceta do problema, pela análise dos dados observados, verificaram-se para os de 1943-44 e 46, respectivamente, as equações seguintes:

Campinas	— 1943 —	Porcent. Esp	$= -0,118 + 0,111x + 0,0097e^{0,0786x}$	(1)
"	— 1944 —	" Esp	$= 0,040 + 0,0954x + 0,0111e^{0,0766x}$	(2)
"	— 1946 —	" Esp	$= -0,017 + 0,1058x + 0,014e^{0,0725x}$	(3)
Cafelandia	— 1946 —	" Esp	$= 0,168 + 0,1005x + 0,024e^{0,068x}$	(4)
Média geral	— —	" Esp	$= -0,020 + 0,1055x + 0,01309e^{0,075x}$	(5)

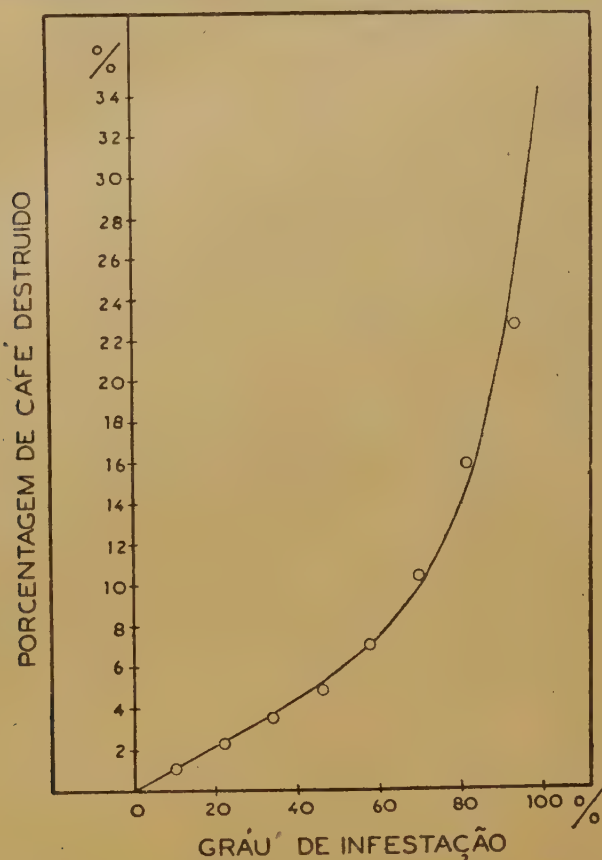
Dada a grande analogia existente entre as quatro séries anuais de porcentagens observadas, essa mesma analogia ou equivalência prevalece entre as respectivas expressões matemáticas, como se evidencia comparando, em cada caso, (tabela 1) as porcentagens observadas de café destruído, com as correspondentes esperadas.

Por outro lado, qualquer das cinco curvas calculadas como representativas da porcentagem de café destruído, adapta-se satisfatoriamente aos dados observados, gráficos 1 e 2.

Mediante resultados tão semelhantes, embora obtidos em épocas e zonas bem diferentes, podemos concluir que a relação matemática estabelecida entre a infestação e a quantidade de café destruído não é influenciada pela flutuação anual das condições meteorológicas, nem pela localização da zona cafeeira. E, de modo geral, que as equações realmente expressam a lei matemática à que o fenômeno se condiciona.

GRÁFICO 2

Curva de regressão representativa média das observações anuais.



PORCENTAGEM DE CAFÉ TRANSFORMADO EM ESCOLHA

Todo café, como se sabe, contém normalmente certa porcentagem de café escolha, variável entre 4 e 5% do rendimento total em café beneficiado.

Consideraremos, portanto, como atribuível à broca toda e qualquer porcentagem de café escolha que ultrapasse êsse limite.

Antes porém de entrarmos em detalhes nesta parte das observações, convém relembrar que, tanto o benefício das amostras, como a separação do café beneficiado em categorias, foram feitos por processo manual. É de admitir, por isso, que a separação das categorias constituídas pelas sementes broqueadas e pela escolha propriamente dita, não tenha sido tão perfeita quão desejável. É possível que algumas sementes broqueadas tenham sido individualmente incluídas na categoria de café escolha, com prejuízo da porcentagem de café broqueado, e vice-versa.

As porcentagens de café escolha, de modo geral, foram computadas tomando-se por base o rendimento total de cada amostra em café beneficiado, pela fórmula $Es \times 100/P$, na qual *Es* representa o peso do café escolha e *P* o peso do rendimento total, inclusive o da escolha.

Das verificações realizadas em 1944 e 1946 quanto à este aspecto da importância econômica da broca resultaram, para cada ano e localidade das observações, as porcentagens de café escolha apresentadas na tabela 2.

TABELA 2

Porcentagens observada e esperada de café escolha,
segundo a infestação

Grau de infestação	PORCENTAGEM DE CAFÉ ESCOLHA							
	CAMPINAS				CAFELÂNDIA		MÉDIA GERAL	
	1944		1946		1946			
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
0	—	3,783	—	4,938	—	4,050	—	4,256
5	4,711	4,479	4,625	5,379	4,440	4,481	4,593	4,726
15	5,021	5,640	6,418	6,239	5,100	5,300	5,577	5,651
25	6,613	6,825	7,624	7,113	6,231	6,143	6,809	6,579
35	7,842	8,047	8,320	8,009	7,059	7,034	7,791	7,545
45	8,131	9,408	8,812	8,951	7,547	8,012	8,184	8,544
55	10,617	10,764	9,533	9,973	8,163	9,141	9,411	9,617
65	10,832	12,218	10,035	11,140	9,340	10,545	10,005	10,831
75	12,823	13,831	11,709	11,815	11,518	12,447	11,986	12,311
85	14,715	15,573	14,145	14,463	15,137	15,242	14,626	14,284
95	17,718	17,697	17,656	17,297	19,800	19,647	18,591	17,185
100	—	18,918	—	19,078	—	22,822	—	19,181

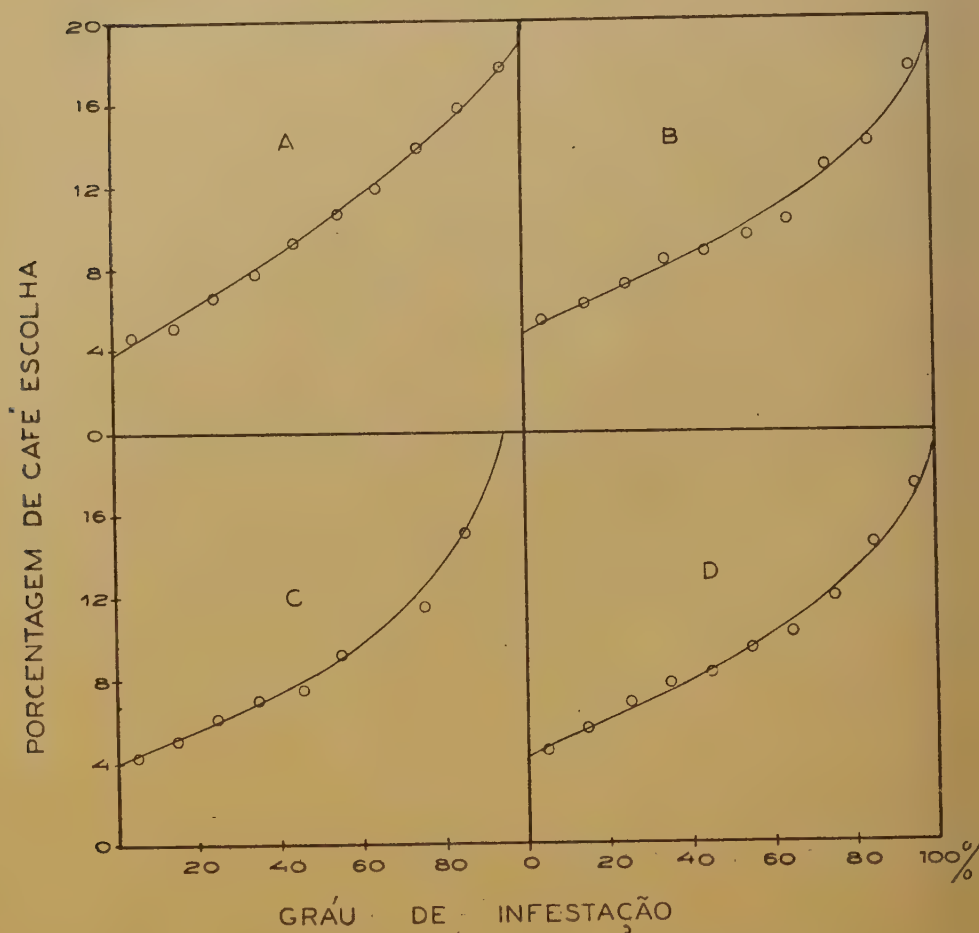
Como no caso das porcentagens de café totalmente destruído pela praga, também neste as variações anuais relativas a cada zona e nível de infestação são, de modo geral, pequenas. Do que se conclue que, independentemente da zona cafeeira, a porcentagem de café escolha é também uma função da intensidade do ataque.

Quanto à relação entre o crescimento das porcentagens de escolha e o da infestação, até ao nível de 65% de ataque, ela condi-

ciona-se a uma regressão de ordem retilínea; a partir desse limite, porém, as porcentagens crescem segundo uma regressão curvilínea, gráfico 3; A-B-C.

GRÁFICO 3

Ordem anual de crescimento das porcentagens de café escolha, segundo a infestação.



- A — linha de regressão verificada em 1944 — Campinas
 B — " " " " " 1946 — "
 C — " " " " " 1946 — Cafelândia
 D — " " " " " média das 3 anuais.

Sobre a expressão matemática do crescimento simultâneo das porcentagens de café escolha e o da infestação, verificou-se que esta é satisfatoriamente representada por uma equação da fórmula $Esp = a + bx + Ce^{dx}$, como abaixo se figura.

$$1944 \text{ — Campinas } \% \text{ Esp} = 3,783 + 0,1107x + 0,122e^{0,0352x} \quad (1)$$

$$1946 \text{ — Campinas } \% \text{ Esp} = 4,938 + 0,0842x + 0,016e^{0,0587x} \quad (2)$$

$$1946 \text{ — Cafelandia } \% \text{ Esp} = 4,053 + 0,0785x + 0,0305e^{0,0588x} \quad (3)$$

$$\text{Média geral } \% \text{ Esp} = 4,256 + 0,09119x + 0,0392e^{0,0509x} \quad (4)$$

Pelo confronto das séries observadas com as correspondentes esperadas, tabela 2, conclue-se que as equações 1-2-3 e 4, de modo geral satisfazem à solução procurada, porquanto as diferenças, tanto entre as séries anuais como entre essas e a média geral esperada, são relativamente pequenas. Outrossim, que a curva, gráfico 3-D, representativa média das três anuais adapta-se satisfatoriamente aos dados médios observados.

PORCENTAGEM DE CAFÉ BROQUEADO

Para a estimativa da porcentagem de café broqueado existente no rendimento total de cada amostra em café beneficiado, conhecido este, a parte broqueada foi separada e pesada isoladamente, calculando-se a seguir pela fórmula $Cb \times 100/P$, na qual Cb representa o peso do café broqueado e P o peso do rendimento total, a porcentagem de café broqueado.

As porcentagens assim verificadas acham-se resumidas na tab. 3.

TABELA 3

Porcentagens, observada e esperada, de café broqueado,
segundo a infestação

Grau de infestação	PORCENTAGEM DE CAFÉ BROQUEADO							
	CAMPINAS				CAFELANDIA		MÉDIA GERAL	
	1944		1946		1946			
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
5	2,219	1,982	1,921	1,710	1,995	1,976	2,077	1,838
15	4,303	5,719	5,148	5,387	6,514	6,239	6,023	5,938
25	9,284	9,458	7,977	9,081	10,820	10,509	10,137	10,047
35	15,414	13,211	13,051	12,806	13,995	14,805	14,625	14,175
45	15,926	17,000	16,050	16,598	17,764	19,137	16,683	18,339
55	18,832	20,878	19,772	20,518	22,798	23,536	21,035	22,579
65	26,031	24,992	24,691	24,692	28,210	28,057	27,774	26,968
75	—	29,702	29,265	29,367	33,000	32,790	29,882	31,653
85	39,526	35,938	35,220	35,032	39,375	37,914	39,396	36,929
95	45,535	46,075	—	42,658	44,662	43,741	44,900	43,379
100	—	54,216	—	47,747	—	47,080	—	47,376

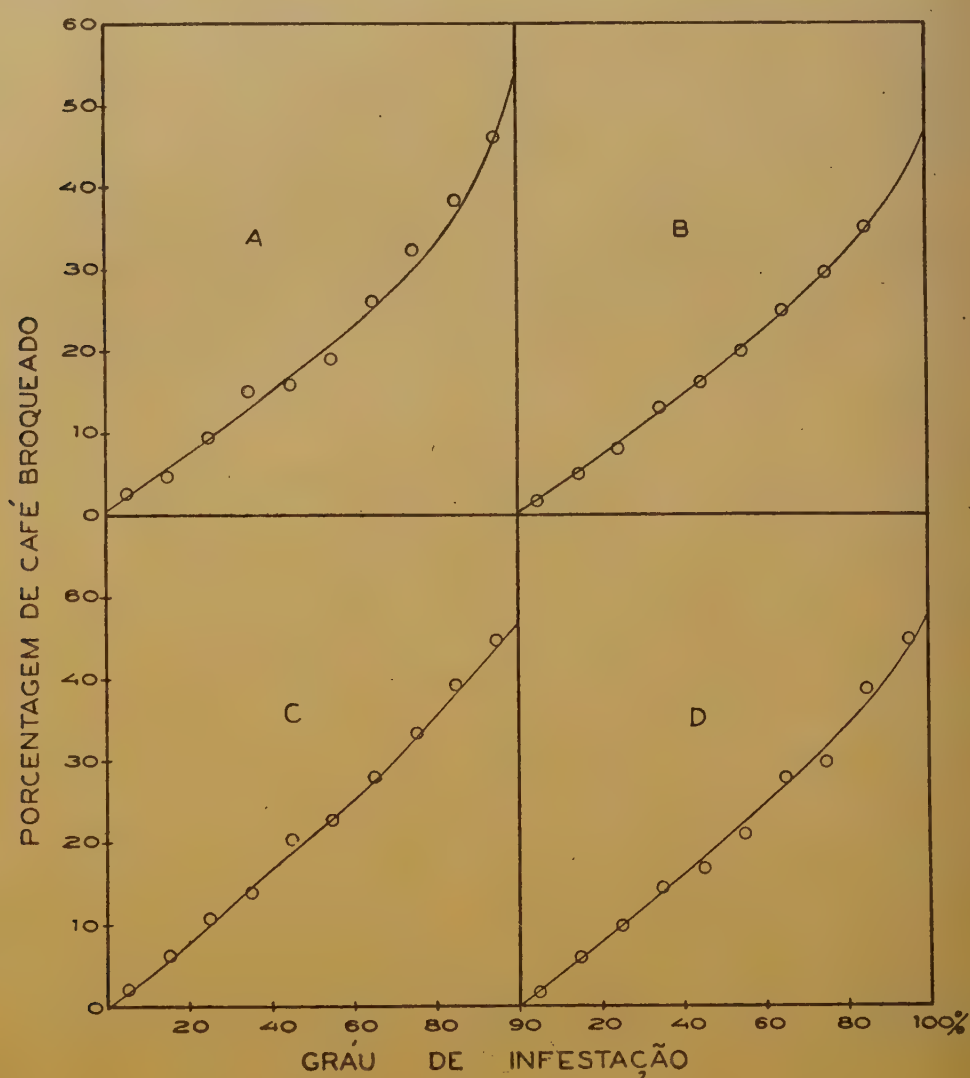
Como se verifica pelo seu confronto, há certa discrepância entre as séries anuais desta categoria de café.

Todavia as séries verificadas respectivamente em Campinas e em Cafelândia confirmam-se reciprocamente, em grande parte.

No que diz respeito à influência da regressão da intensidade do ataque nas porcentagens de broqueado, essa é também de ordem curvilínea, gráfico 4.

GRÁFICO 4

Linhas anuais de regressão da infestação na porcentagem de café broqueado



A — Linha de regressão verificada em 1944 — Campinas
 B — " " " " " 1946 — "
 C — " " " " " 1946 — Cafelandia
 D — " " " " " média das anuais.

Constatado assim o tipo de análise aplicável aos dados, desta resultaram, como expressão matemática do crescimento das porcentagens em relação ao aumento do grau de infestação, as equações:

$$1944 \text{ — Campinas } \% \text{ Esp} = 0,119 + 0,373x + 0,0014e^{0,0939x} \quad (1)$$

$$1946 \text{ — Campinas } \% \text{ Esp} = -0,137 + 0,366x + 0,0124e^{0,0681x} \quad (2)$$

$$1946 \text{ — Cafelandia } \% \text{ Esp} = -0,172 + 0,425x + 0,013e^{0,0589x} \quad (3)$$

$$\text{Média Geral } \% \text{ Esp} = -0,216 + 0,409x + 0,0068e^{0,0698x} \quad (4)$$

Comparando-se, tabela 3, cada série de porcentagem verificada anualmente com a correspondente esperada, verifica-se pela analogia dos valores que as equações expressam efetivamente a lei matemática segundo qual a porcentagem de café broqueado cresce em relação ao aumento da infestação.

Com relação às séries médias das observações anuais, observada e esperada, verifica-se, de um lado pelo seu confronto, e de outro pela adaptação dos dados médios observados à curva traçada segundo a equação 4, gráf. 4 B, que há entre elas pequena discrepância.

Comparando-se ainda cada série das observações anuais com a série da média geral esperada, verifica-se igualmente que, ainda neste caso, as diferenças são pequenas. Esse fato permite-nos concluir que, independentemente das épocas ou das zonas cafeeiras consideradas, a porcentagem de café broqueado subordina-se totalmente à intensidade do ataque.

PORCENTAGEM DO CAFÉ NORMAL

Como nos casos anteriores, a porcentagem de café normal relativa a cada grau de infestação foi, também, computada sobre o rendimento total de cada amostra, em café beneficiado.

Para os cálculos adotou-se a fórmula $C_n \times 100/R_t$, onde C_n representa o peso verificado de café normal, e R_t o rendimento total de cada amostra.

As porcentagens verificadas são as resumidas na tabela 4.

Os dados figurados nesta tabela, como se evidencia, comparando os de 1944 com os correspondentes de 1946, observados respectivamente em Campinas e Cafelândia, pouco se diferem.

Quanto à redução de seus valores pela broca a cada nível de ordem ascendente da infestação, como os próprios dados revelam, ela se acentua pronunciadamente à medida que a infestação aumenta, porem com relativa uniformidade.

Devido a este fato, isto é, obedecer o valor das porcentagens de café normal a uma ordem inversa à da infestação, para facilitar a sua análise e também para que ambas, quando graficamente figuradas, tivessem a mesma origem no gráfico, as porcentagens de café normal foram substituídas pelo inverso dos respectivos valores.

TABELA 4
Porcentagens observada e esperada de café normal, segundo o grau de infestação

Grau de infestação %	PORCENTAGEM DE CAFÉ NORMAL							
	CAMPINAS				CAFELANDIA		MÉDIA GERAL	
	1944		1946		1946			
	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.	Obs.	Esp.
5	94,880	94,428	93,118	93,729	92,180	94,777	93,508	93,998
15	89,643	89,349	88,643	88,339	88,846	88,746	88,746	88,409
25	84,629	84,090	84,723	83,472	84,001	83,319	84,513	83,354
35	79,144	79,207	79,383	78,926	78,026	78,290	78,883	78,653
45	77,380	74,493	74,934	74,638	74,702	73,432	75,647	74,096
55	75,054	69,647	71,291	70,293	70,088	68,408	70,820	69,376
65	64,657	64,246	65,658	65,427	61,740	62,743	63,384	63,991
75	57,052	57,706	57,175	59,301	59,176	55,819	58,492	57,247
85	—	49,451	52,050	50,925	50,055	47,061	50,228	48,426
95	40,700	39,362	—	39,886	34,714	36,519	34,987	37,447
100	—	33,868	—	33,619	—	30,931	—	31,540

A redução das porcentagens desta categoria de café, segundo a infestação, como se verifica pelo gráfico 5, enquadra-se também num caso de regressão curvilínea.

Matematicamente, o decréscimo ou redução das porcentagens desta categoria de café pela broca é plenamente representado por uma equação da fórmula $Esp = a + bx + Ce^{dx}$.

De fato, procedida a análise na base do inverso das porcentagens verificadas, desta originaram-se as equações:

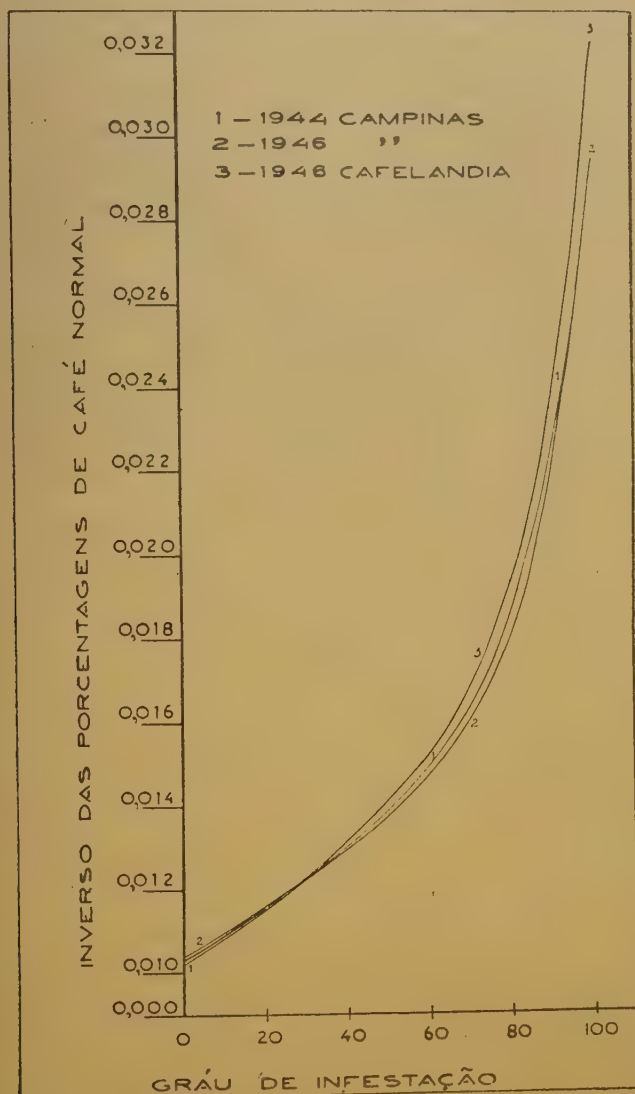
$$\begin{aligned}
 1944 - \text{Campinas} - \% \text{ Esp} &= \frac{1}{0,01016 + 0,0000668x + 0,00001067e} & (1) & \quad 0,0708x \\
 1946 - \text{Campinas} - \% \text{ Esp} &= \frac{1}{0,01034 + 0,0000648x + 0,00000355e} & (2) & \quad 0,082x \\
 1946 - \text{Cafelandia} - \% \text{ Esp} &= \frac{1}{0,010186 + 0,00007x + 0,00001088e} & (3) & \quad 0,0723x \\
 \text{Média Geral} - \% \text{ Esp} &= \frac{1}{0,010298 + 0,000066x + 0,000007475e} & (4) & \quad 0,0759x
 \end{aligned}$$

A concordância das porcentagens observadas anualmente com as suas correspondentes esperadas, tabela 4, mostra que as equações expressam de fato, a relação matemática aplicável ao caso.

Outrossim, que as diferenças entre as séries de porcentagens observadas e esperadas, de modo geral, são pequenas até a elevada infestação de 85%.

GRÁFICO 5

Ordem anual de decrescimo das porcentagens de café normal, segundo a infestação verificada em 1944 e 1946.

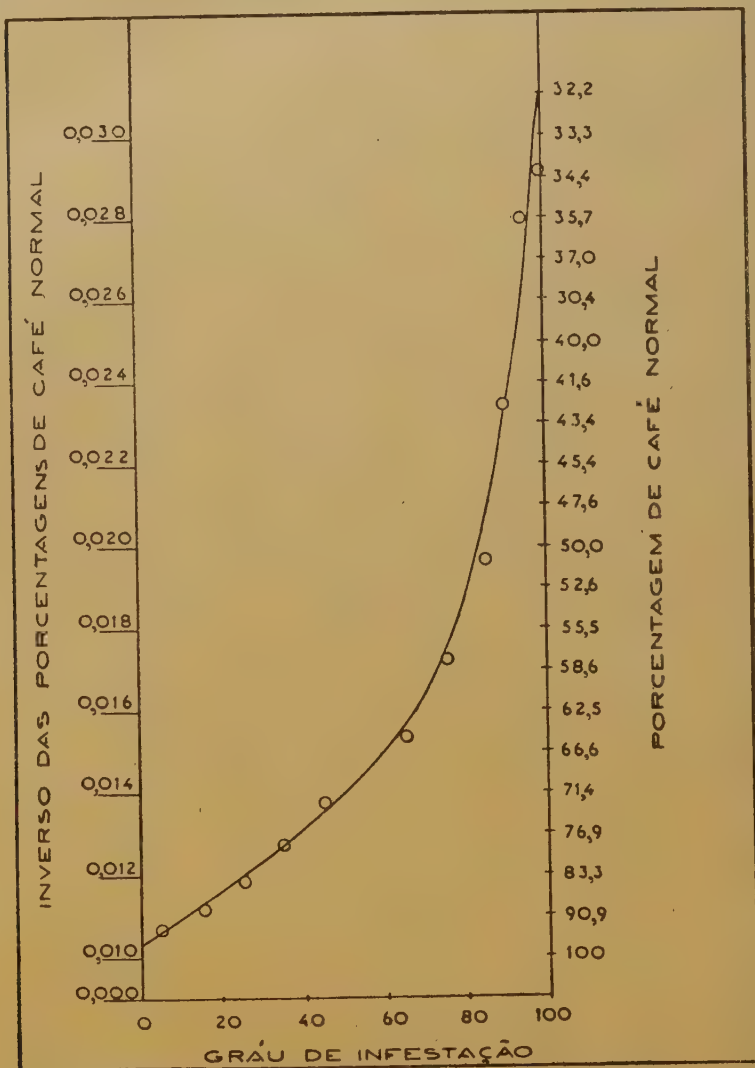


Baseado nessa quasi perfeita concordância entre os dados, pode-se concluir que a curva fornecida pela equação (4) ajusta-se conve-

nientemente às médias anuais de qualquer das três observações, gráfico 6.

GRÁFICO 6

Curva de regressão representativa média das observações anuais.



Tratando-se de um problema de ordem biológica, como é o do presente caso, por conseguinte influenciado por vários fatores, as variações entre os resultados anuais foram, em geral, relativamente pequenas, até ao elevado grau de 85% de infestação.

Todavia, a partir do limite de 85% de infestação até a máxima de 100%, quer se trate das porcentagens de café destruído, das porcentagens do transformado em escolha ou das porcentagens de café

broqueado, verificaram-se variações mais amplas, tanto entre as porcentagens observadas anualmente como entre estas e as correspondentes esperadas. A causa determinante dessa desproporcionalidade entre infestação e danos é, aliás, compreensível.

Como facilmente se depreende, parece não haver dúvida que enquanto houver abundância de frutos indenos na lavoura, à medida do aumento de sua população, a broca vai-se distribuindo por êsses frutos de maneira normalmente regular. Logo, porém, que a infestação tenda para o limite de saturação, é evidente que a referida normalidade de distribuição da praga deixará, forçosamente, de existir. Haverá, pelo contrário, um acúmulo anormal de broca nos frutos já atacados, e, neste caso, visivelmente, a extensão dos danos deixará de ser uma função exclusiva da intensidade do ataque, para ser uma resultante do ataque aliado ao fator tempo, decorrido entre a data inicial de tal infestação e a da colheita do café.

Nessas condições, quanto mais retardada for a colheita maior será a população de broca por fruto e, conseqüentemente, maiores serão também os estragos e a desproporcionalidade entre estes e a simples porcentagem de frutos broqueados, em que as nossas observações foram baseadas.

PORCENTAGEM ESPERADA DE CADA CATEGORIA DE CAFÉ BENEFICIADO E DE CAFÉ DESTRUÍDO, SEGUNDO A INFESTAÇÃO

Como foi verificado, há estreita relação matemática, não só entre a infestação do café em “côco” e as porcentagens de cada categoria de café beneficiado, como também entre essa e a porcentagem de café totalmente destruído pela broca. Conhecida a infestação, temos portanto todos os elementos necessários para, na prática, calcular o vulto dos danos ocasionados pela praga. Computados e reunidos como na tabela 5 e gráfico 7, os resultados permitem, não só uma apreciação mais objetiva e global das várias modalidades de prejuízos acarretados pela broca, como também da relativa importância econômica de cada uma delas.

Antes porém de qualquer cálculo de caráter prático baseado nos dados da tabela 5, convém lembrar que os cálculos das porcentagens, aí figuradas, de modo geral, foram baseados na quantidade de café auferida pelo benefício das amostras, de modo que, a cada nível de infestação, de um lado as porcentagens de café escolha, broqueado e de normal, indicassem a proporção em que elas ocorrem

em cada rendimento e que, de outro, as de café destruído indicassem de quanto este mesmo rendimento acha-se reduzido pela broca.

Suponhamos, a título de aplicação prática desses dados, que um lote de café com 40% de infestação tenha rendido, ao ser beneficiado, 500 Kg de café limpo. Consultando a tabela 5 (infest. 40%) ela nos

TABELA 5

Porcentagem esperada de cada categoria de café beneficiado e de café destruído pela broca, segundo a infestação

GRAU DE INFESTAÇÃO %	PORCENTAGENS MÉDIAS ESPERADAS DE CAFÉ				
	Normal	Broqueado	Escolha	Total	Destruido
0	95,456	—	4,761	100,061	—
10	91,132	3,887	5,229	100,284	1,058
20	86,122	7,991	6,183	100,296	2,144
30	80,971	12,108	7,168	100,247	3,266
40	76,376	16,672	8,192	101,240	4,459
50	71,787	20,446	9,306	101,539	5,814
60	66,809	23,749	10,540	101,098	7,500
70	60,845	29,260	11,023	101,128	9,895
80	53,129	34,190	13,216	100,532	13,793
90	43,161	39,953	16,694	99,808	20,880
100	31,540	47,376	19,756	99,672	34,212

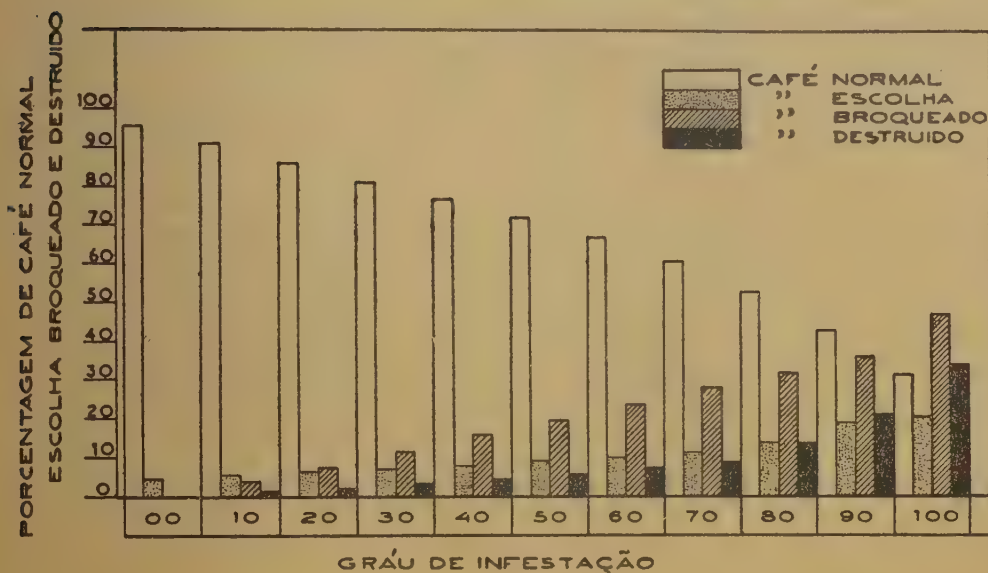
indica que esse rendimento é integrado por 76,376% de café normal; 16,672% de café broqueado e 8,192% de café escolha. Por outro lado, também (Col. % de café destruído), que a esse mesmo rendimento corresponde uma perda igual a 4,459% do seu peso, em café destruído pela broca.

Nessa proporção, os 500 Kg são integrados por 381,880 Kg de café normal; 83,360 Kg de café broqueado e 40,960 Kg de café escolha. Quanto à perda, que ao rendimento auferido de 500 Kg correspondem 22,295 Kg de café totalmente destruído pela broca.

A porcentagem de café destruído constitui assim, entre as demais constantes da tabela 5, um dado complementar com o qual, conhecidos a infestação e o rendimento em café beneficiado de um lote de café em côco, é possível avaliar, isoladamente, de quanto tal rendimento foi prejudicado pela praga.

GRÁFICO 7

Porcentagem esperada de cada categoria de café beneficiado e de café destruído pela broca, segundo a infestação.



ENCARECIMENTO DO CUSTO DA CATAÇÃO MANUAL

Nenhum processo mecânico de melhoramento do tipo do café conta ainda com suficiente grau de aperfeiçoamento, pelo qual seja possível eliminar ou mesmo reduzir a quantidade de sementes broqueadas de um lote aos limites tolerados pelos mercados externos.

Os processos em voga são, como sabemos, baseados na diferença de densidade das sementes sãs e broqueadas. Acontece, porém, que por êsse processo só as sementes muito danificadas são separadas, juntamente com o café escolha. As levemente broqueadas entretanto, pelo fato de terem densidade pouco inferior à das sãs, não são separadas.

Daí a necessidade do rebenefício da maioria dos lotes destinados a exportação, pela catação manual.

Segundo a praxe comercial, o número de defeitos introduzidos nos lotes pela broca é dado pela divisão do total de sementes broqueadas, encontradas em 300 gr de café, por 5. Nessa base, como se verifica na tabela 6, o número de defeitos representado pelas sementes broqueadas é relativamente alto até nos casos de uma infestação pequena.

Como se infere pelos dados observados e esperados, em qualquer dos casos o aperfeiçoamento manual do café requer, além do

normal, uma soma de trabalho proporcional ao número de defeitos constituídos pelas sementes broqueadas.

O rendimento beneficiado de um lote com 10% de infestação, por exemplo, compõe-se (tabela 5) de 91,132% de café normal e 3,887% de broqueado.

Como se vê, a porcentagem de café broqueado, neste caso, é pequena; entretanto, apesar disso, ela introduz no lote beneficiado (tabela 6) de 16 a 19,4 defeitos.

TABELA 6

Número médio de defeitos representado pelas sementes broqueadas, segundo a infestação.

INFESTAÇÃO %	NÚMERO DE DEFEITOS	
	Obs.	Esp.
5	10	9,4
10	16	19,4
15	27	29,4
20	40	39,5
25	50	50,3
35	70	70,6
45	91	92,6
55	103	116,8
65	144	145,6
75	166	183,2
85	229	238,00
95	317	330,0

Dada a relação entre a infestação e o número de defeitos, como os dados indicam, até o limite de 45% de infestação, o número de defeitos cresce segundo a equação da reta, $Esp = a + bx$, e, a partir deste limite, o crescimento passa a ser de ordem curvilínea, para se enquadrar numa equação da fórmula: $Esp = a + bx + Ce^{dx}$, resultando no caso, como expressão do referido aumento, a equação: $Esp = 0,67 + 1,97x + 0,21e^{0,0684x}$.

ENCARECIMENTO DO TRATO CULTURAL DO CAFEZAL

Além do prejuízo global representado, de um lado, pela transformação de uma parte do café normal em escolha de pouco valor, e, de outro pelo do número de defeitos relativos à quantidade de sementes broqueadas, assim como pelo relativo à parte de café destruído pela broca, há ainda a considerar o representado pelo encarecimento do trato cultural dos cafezais.

A quantidade de café destruído anualmente pela broca corresponde, como facilmente se deduz, à produção de certo número de

cafeeiros, proporcional à intensidade do ataque da safra. Esses cafeeiros, entretanto, recebem, como os demais, todos os cuidados culturais, sem contudo contribuir, devido à broca, para elevar o nível da produção total. Em aditamento ao custo do trato cultural desses cafeeiros, deve-se ainda considerar o da colheita, carreto, seca e benefício de sua produção, cujo rendimento final, em café beneficiado, é igual a zero.

Admitindo-se, a título de elucidação, que a produção de 1.000 cafeeiros, com 20% de frutos atacados, tenha rendido 400 Kg de café beneficiado, ou sejam 400 gr por planta, a discussão do problema será facilmente compreendida.

Reportando-se à tabela 5, verifica-se que ao rendimento de um lote de café com 20% de ataque correspondem 2,144% de café totalmente destruído pela broca, perda que, calculada sobre os 400 Kg auferidos, monta a 8,576 Kg.

Do exposto conclue-se que a produção real dos mil cafeeiros, neste caso, foi de 400 Kg mais os 8,576 Kg de café consumido pela broca, ou sejam ao todo 408,576 Kg. Este total, dividido pelos mil cafeeiros, dá para cada um uma produção média real de 0,408576 Kg.

Ora, se a produção real por cafeeiro foi de 0,408576 Kg, é evidente que, nessa base, para produzir os 400 Kg auferidos não seriam necessários 1.000 cafeeiros, mas sim o número indicado pelo quociente, que se verifica pela divisão da produção total auferida, pela produção média real de cada planta ($400/0,408576$) ou sejam 978 cafeeiros.

Chega-se, assim, à conclusão lógica de que a produção dos 1.000 cafeeiros foi reduzida, pela broca, de uma quantidade de café correspondente à produção real de 22 deles. A redução da safra elevou, portanto, o custo de todos os tratos culturais dispensados aos 978 cafeeiros, de uma importância correspondente ao trato cultural de 22 plantas, inclusive o da colheita, carreto, seca e benefício de sua produção, cujo cômputo discutiremos em outro capítulo.

ESTIMATIVA DA IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA PRAGA, EXPRESSA EM CRUZEIROS

Conhecida a extensão dos danos que a broca ocasiona no café segundo a intensidade do ataque, vejamos, em bases módicas, a quantos cruzeiros ascenderão esses danos em determinado ano agrícola, no Estado de S. Paulo.

Os preços básicos de custo da produção de que nos serviremos para os cálculos, assim como os relativos à cotação comercial do produto em geral, são os que vigoraram em 1944, por conseguinte inferiores aos atuais.

Segundo informações de pessoas idôneas e diretamente relacionadas com este ramo, tanto na parte agrícola como na comercial, os preços básicos vigentes em 1944 foram:

Trato cultural por mil plantas, médio	Cr\$ 500,00
Colheita por saco de 100 l de café em côco - média	Cr\$ 2,50
Carreto, custo médio por saco	Cr\$ 0,20
Seca, custo médio por saco	Cr\$ 0,20
Benefício, custo médio por saco	Cr\$ 0,20
Melhoramento do tipo pela catação manual:	
Café normal, saco de 60 Kg	Cr\$ 2,00
Café broqueado, saco de 60 Kg	Cr\$ 3,00 a Cr\$ 4,00
Cotação comercial do produto por saco de 60 Kg:	
Café normal	Cr\$ 300,00
Broqueado oriundo de lote com infestação até 40%, inclusive	Cr\$ 270,00
Broqueado oriundo de lote com infestação entre 40 e 100%	Cr\$ 240,00
Café escolha em geral	Cr\$ 180,00

Quanto ao vulto da safra e do grau médio de infestação a serem considerados nesta parte do trabalho, os cálculos baseiam-se numa produção média de 5 sacos de 60 Kg de café beneficiado por mil plantas, e um ataque médio de 20%.

VALOR DO CAFÉ DESTRUÍDO

Na base da produtividade média admitida, a produção do bilhão de cafeeiros do Estado montou, portanto, a 5 milhões de sacos de café beneficiado, de 60 Kg cada um.

Mas, como já vimos em capítulo anterior, sempre que haja infestação, grande ou pequena, há também um prejuízo correspondente. Com a continuidade do ataque pela broca, certa quantidade de café é transformada de broqueado em escolha e finalmente reduzida a pó.

No caso da infestação de 20%, segundo nos indicam os dados resumidos na tabela 5, à safra em apreço corresponde uma perda, em peso, de 2,144% do total; e outrossim que os 5.000.000 de sacos auferidos são integrados por 86,122% de café normal; 7,991% de café broqueado e 6,183% de café escolha (1).

(1) - Como a soma das três percentagens excede a 100%, a pequena diferença de 0,296% foi subtraída da percentagem de café broqueado.

Decomposta em categorias e calculado o valor de cada uma na base das cotações admitidas, chegaremos, quanto a essa safra, aos seguintes resultados:

Produção auferida com 20% de ataque,
5 milhões de sacos

CATEGORIA	Porcentagem	Sacos	Cotação Cr \$	Valor Cr \$
Café destruído	2,144	107.200	—	—
" broqueado	6,183	309.150	180,00	55.647.000,00
" escolha	7,695	384.750	270,00	103.882.500,00
" normal	86,122	4.306.100	300,00	1.291.830.000,00
TOTAL.....	100,000	5.107.200	—	1.451.359.500,00

Os cálculos conduziram assim à clara conclusão de que, se a broca não existisse nas lavouras paulistas, em vez de 5 milhões uma produção real de 5.107.200 sacos seria a verificada. Por outro lado, como indicam os dados da tabela 5, quando a infestação é zero, há apenas duas categorias de café: café normal e café escolha, na proporção de 95,300 da primeira para 4,700 da segunda.

Neste caso teríamos, portanto, os resultados abaixo:

Produção real, sem ataque, 5.107.200 sacos

CATEGORIA	Porcentagem	Sacos	Cotação Cr \$	Valor Cr \$
Café escolha	4,700	240.038,400	180,00	43.206.912,00
" normal	95,300	4.867.161,100	300,00	1.460.148.480,00
TOTAL.....		5.107.200,000	—	1.503.355.392,00

Subtraindo-se o valor da produção auferida com 20% de ataque, do valor da produção real, a diferença indica que, nas condições admitidas, os danos acarretados pela praga, pela destruição de uma parte da safra e depreciação da restante, montam à considerável soma de 51.995.892,00 cruzeiros.

ENCARECIMENTO DO PRODUTO PELA CATAÇÃO MANUAL

Reportando-se à tabela 5, vemos que, ao grau de 20% de infestação correspondem um rendimento em café beneficiado, integrado por 86,122% de café normal, 7,991% de broqueado e 6,183% de escolha.

A porcentagem de escolha, como sabemos, não constitui tipo de exportação, e, de mais a mais, essa categoria é perfeitamente separável do restante pelas máquinas usuais de benefício.

Feita, portanto, a exclusão da porcentagem de escolha, verifica-se ainda que a parte exportável do total de 5 milhões de sacos cujo tipo depende de melhoramento pela catação manual é representada por uma mistura constituída de 86,122% de café normal e 7,991% de café broqueado, parte, esta, equivalente a 4.705.650 sacos.

Admitindo-se, porem, que desta mistura, uma parte de 30% tenha sido destinada ao consumo interno e dispensasse, por isso, um preparo esmerado, os 70% ou 3.293.955 sacos destinados à exportação não o dispensam.

Porquanto, dado o grau de aperfeiçoamento das máquinas de benefício do produto, impossível tem sido evitar que várias causas de impurezas consideradas como defeito, normalmente se apresentem nos lotes.

A eliminação dessas impurezas pela catação manual constitui um serviço obrigatório e pago à razão de Cr\$ 2,00 por saco de 60 Kg de café, e a 3 e 4 cruzeiros quando além dessas impurezas os lotes encerram também defeitos constituídos pelas sementes broqueadas.

Como o caso em apreço se enquadra na segunda condição, conclue-se que, devido à presença de sementes broqueadas nos lotes, o custo normal de melhoria do tipo do produto é majorado no mínimo em um cruzeiro por saco. Nesta base, a broca encareceu o custo do preparo da parte exportável da safra considerada, em nada menos de Cr\$ 3.293.955,00 cruzeiros.

ENCARECIMENTO DO TRATO CULTURAL

Quanto ao prejuízo decorrente do trato cultural dos cafeeiros, cuja produção corresponde à parte de café destruída pela praga, como vimos, a produção real do Estado foi de 5.107.200 sacos de café, enquanto a auferida foi apenas de 5.000.000. A produção média real por planta foi, portanto de 5.107.200/1.000.000.000 ou seja 0,0051072 de saco.

Ora, se de um lado conhecemos a quantidade de sacos de café destruído (107.200) e, de outro a produção média real por planta, conclusivamente o número de cafeeiros cuja produção corresponde

aos 107.200 sacos de café destruído é dado pelo quociente resultante da divisão da primeira pela segunda.

Verifica-se assim, que os 107.200 sacos destruídos correspondem à produção real de 21 milhões de cafeeiros, aproximadamente.

Ao preço médio de Cr\$ 500,00 pagos pelo trato cultural de mil plantas o trato cultural dispensado a esses 21 milhões de cafeeiros monta a 10.500.000 cruzeiros.

A este capítulo subordina-se também o custo da colheita, carreto, seca e beneficio da produção dos 21 milhões de cafeeiros acima referidos.

No Estado de S. Paulo, em média, cada 3 sacos de 100 l de café em côco rendem um saco de 60 Kg de café beneficiado. Nessa proporção de 3 em côco para um de 60 Kg destruído, aos 107.200 sacos destruídos correspondem 321.600 sacos de café em côco de 100 l cada um.

Aos preços de custo de Cr\$ 2,50 para a colheita e Cr\$ 0,20 respectivamente para o carreto, seca e beneficio, de cada saco, o prejuízo aditivo, havido sob esse aspecto, monta a 996.960 cruzeiros, como abaixo se verifica.

Colheita	—	321.600 x 2,50 =	Cr\$804.000,00
Carreto	—	321.600 x 0,20 =	64.320,00
Seca	—	321.600 x 0,20 =	64.320,00
Beneficio	—	321.600 x 0,20 =	64.320,00
Total =			Cr\$996.960,00

Adicionanado-se a este total a parcela anterior de 10.500.000 cruzeiros, chegamos à conclusão de que o trato cultural dispensado aos 21 milhões de cafeeiros, cuja produção a broca consumiu, monta a 11.496.960 cruzeiros.

TOTAL DOS PREJUÍZOS VERIFICADOS

A biologia da broca, como das pragas em geral, subordina-se a uns tantos fatores, cuja interação nem sempre pode ser devidamente interpretada.

Dai a grande complexidade do problema relativo à estimativa de sua importância econômica. Contudo essa complexidade, como vimos, foi grandemente atenuada pela subdivisão do problema geral em várias partes, cada uma das quais foi estudada, tanto quanto possível, independentemente das outras.

Pela adição final dos resultados assim obtidos, verifica-se que a importância econômica da broca, nas condições consideradas, monta à considerável soma de 66.786.807,00 cruzeiros, assim distribuídos:

Valor da parte destruída e depreciação da restante ..	Cr\$51.995.892,00
Aumento do custo do trato cultural dos cafezais	11.496.960,00
Aumento do custo normal da catação manual da parte destinada a exportação	3.293.955,00

Total: Cr\$66.786.807,00

CONCLUSÃO

Em resumo, podemos tirar deste trabalho as seguintes conclusões:

1º) — que de todas as modalidades de danos ocasionados a determinada safra pela broca, destaca-se, pelo vulto do prejuízo que representa, a referente ao café que ela destrói;

2º) — que nas condições admitidas para o cálculo da importância econômica da praga, verificou-se a) que cerca de 107.200 sacos de café foram totalmente destruídos; b) que esse total corresponde à produção de 21 milhões de cafeeiros, aproximadamente;

3º) — que a importância econômica da broca calculada na base dos preços e produção de 1944, representa para a economia cafeeira do Estado um prejuízo anual de 66.786.807,00 cruzeiros;

4º) — que se os cálculos tiverem por base os mesmos dados agrícolas admitidos, e os prejuízos forem porém, computados na base dos preços atuais, de um a dois mil cruzeiros pagos pelo trato de 1.000 cafeeiros e Cr\$ 500,00 por saco de café exportável etc., o resultado final, assim atualizado, eleva a importância dos prejuízos acarretados pela broca, da verificada para cerca de 100 milhões de cruzeiros anuais.

THE ECONOMIC IMPORTANCE OF THE COFFEE BERRY-BORER
"Hypothenemus hampei (FERR.)" IN THE STATE OF S. PAULO, BRAZIL

A b s t r a c t

The results of some experiments carried on the economic importance of the coffee berry-borer in the State of S. Paulo, during the seasons of 1943-44-46, are presented in this paper.

The extent of material damage caused by the insect according to the degree of crop infestation and the corresponding value of losses in "cruzeiros" are discussed.

AÇÃO ANTINEOPLÁSICA DOS FILTRADOS DE CULTURA DE "ASPERGILLUS FLAVUS LINK" DEMONSTRADA "IN VITRO" SOBRE UM TUMOR TRANSPLANTAVEL DO CAMONDONGO

POR

J. R. Meyer

Do Instituto Biológico de S. Paulo

A verificação de substâncias antineoplásicas formadas por cogumelos de ação antibiótica (3, 4 e 5) levou-nos a experimentar os filtrados de cultura de uma amostra de *Aspergillus flavus* LINK que, segundo WILLKINS e HARRIS (8) também é um fungo produtor de substâncias bacteriostáticas.

As culturas usadas para nossas experiências foram feitas em meio nutritivo contendo triptona e açúcar pardo. Nesse meio elas se desenvolvem rapidamente à temperatura de 22° C, razão pela qual todas as provas foram feitas com filtrados obtidos do líquido nutritivo a partir do 3.º dia após a sementeira de esporos desse cogumelo.

As provas para a verificação do poder antineoplásico foram realizadas segundo o método e com um tumor transplantável do camondongo descritos em outro trabalho (3).

Em cada experiência tomavamos 5 fragmentos de um mesmo tumor e os colocavamos num recipiente contendo 15 a 20 ml do líquido da cultura. Outros tantos fragmentos do mesmo tumor eram colocados noutro recipiente com 15 a 20 ml de solução salina isotônica. Ambos os recipientes eram depois levados à geladeira onde permaneciam de 48 a 72 horas. Depois os fragmentos eram separadamente enxertados sob a pele de camundongos do mesmo sexo e idade e os resultados lidos semanalmente e considerados definitivos ao fim de 10 semanas de observação.

O quadro seguinte, resumindo os resultados das experiências, mostra que o líquido das culturas começa a tornar-se ativo, do ponto de vista antineoplásico, aos três dias de crescimento do fungo. Essa atividade atinge o auge no sétimo dia de cultura. A partir do oitavo ou nono dia começa a decrescer e desaparece espontaneamente no vigésimo dia.

TABELA 1

Atividade antineoplásica dos filtrados de culturas de *Aspergillus flavus* LINK,
em diversas fases de desenvolvimento

	Exp. 912	Exp. 914	Exp. 915	Exp. 916	Exp. 917	Exp. 918
Idade das culturas quando feitos os filtrados para prova da atividade	3 dias	7 dias	11 dias	15 dias	20 dias	25 dias
N.º de camundongos enxertados com fragmentos tratados pelos filtrados das culturas de <i>Aspergillus flavus</i>	5	5	5	5	5	5
N.º de tumores que se desenvolveram mediante os enxertos do material tratado pelos filtrados	3	0	4	4	5	5
N.º de camundongos testemunhas enxertados com fragmentos dos mesmos tumores, após tratamento pela solução isotônica	5	5	5	5	5	5
N.º de tumores que se desenvolveram mediante o enxerto do material tratado pela solução salina	5	5	5	5	5	5
Porcentagens indicando a atividade antineoplásica dos filtrados (% de resultados negativos após os enxertos)	40%	100%	20%	20%	0%	0%
Porcentagens indicando a atividade do material neoplásico usado para as provas (% de tumores que resultaram dos enxertos do material testemunha)	100%	100%	100%	100%	100%	100%

DISCUSSÃO

A amostra de *Aspergillus flavus* com que realizamos as experiências citadas foi-nos fornecida pelo Dr. V. Guida, da seção de Bacteriologia, que a recebeu do Dr. E. W. Rake do Squibbs Institute for Medical Research, de Brunswick N. Y., Estados Unidos.

A produção de agentes bacteriostáticos e bactericidas pelas culturas de representantes do genero *Aspergillus* e de outros generos

afins é fato que foi demonstrado por WEINDLING e EMERSON (7), WAKSMAN e HORNING (6), MENZEL, WINTERSTEIN e HOOGERHEIDE (2), WILKINS e HARRIS (8).

Que pelo menos um representante desse genero é produtor de efeito antineoplásico, foi verificado por KIDD (1). Este pesquisador mostrou que os filtrados de cultura de *Aspergillus fumigatus* tinham a capacidade de neutralizar a atividade neoplásica de três tumores transplantáveis. O princípio ativo desses filtrados fôra primeiramente denominado fumigacina. Os estudos feitos posteriormente por MENZEL com esse cogumêlo admitem que a fumigacina seja principalmente constituída pela substância encontrada nos filtrados de *Gliocladium* por WEIDLING e que recebera o nome de gliotoxina. A gliotoxina empregada *in vitro* por KIDD sobre pedaços do linfossarcoma de camundongo de GARDNER, sobre o carcinoma do coelho de BROWN PEARCE e sobre um outro tumor conjuntivo transplantável do camundongo, demonstrou a mesma atividade antineoplásica desenvolvida pelos filtrados de *Aspergillus fumigatus*.

Essa substância é pouco estável nos meios alcalinos e dotada de efeitos tóxicos, matando os camundongos quando injetada peritonealmente na dóse de 1 mg por 20 gr de peso vivo.

In vivo quando injetada em camundongos com tumores já desenvolvidos ela não demonstra a mesma atividade antineoplásica nítida verificada *in vitro*.

Não temos ainda elementos para dizer se nos fungos produtores de antibióticos com que trabalhamos a atividade antineoplásica também é devida a gliotoxina.

As observações feitas neste trabalho, aliadas às de KIDD e às que fizemos anteriormente com os filtrados de *P. notatum* e com as frutificações de *Polyporus cinnabarinus*, contribuem para reforçar a idéia geral de que os cogumêlos produtores de substâncias bacteriostáticas também produzem princípios ativos que atuam sobre células animais transplantáveis.

Tentativas para isolamento do princípio ativo a modo do que fizemos com os filtrados de *P. notatum* não foram tentadas, dada a instabilidade muito maior do poder antineoplásico encontrado nas culturas de *Aspergillus flavus*.

ANTINEOPLASTIC ACTION OF CRUDE FILTRATES OF CULTURES
OF "ASPERGILLUS FLAVUS LINK" DEMONSTRATED "IN VITRO"
ON A TRANSPLANTABLE TUMOR OF THE MOUSE

A b s t r a c t

In this paper a series of experiments is reported showing that filtrates of cultures of Aspergillus flavus, grown in a medium prepared with tryptone and brown sugar, have an antineoplastic effect on cells of a transplantable tumor of the mouse, when treaded in vitro. This effect begins to disappear spontaneously after the eight day of culture and is supposed to be due to the presence of gliotoxin.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — KIDD, J. G. — 1947 — Effects of an antibiotic form Aspergillus fumigatus on tumor cells "in vitro" and its identity with Gliotoxin. *Science*, 105: 511-513.
 - 2 — MENZEL, WINTERSTEIN e HOOPERHEIDE — 1944 — The isolation of gliotoxin and fumigacin from culture filtrates of Aspergillus fumigatus. *J. Biol. Chem.*, 152: 419-429.
 - 3 — MEYER, J. R. — 1945 — Indícios da existência de uma substância anti-neoplásica formada nos líquidos de cultura de Penicillium notatum. *Arq. Inst. Biológico*, S. Paulo, 16 : 307-314.
 - 4 — MEYER, J. R. e H. CERRUTTI — 1946 — Ação antinoplásica dos extratos aquosos do "Polyporus cinnabarinus" demonstrada "in vitro" com um tumor transplantavel de camundongo. *Arq. Inst. Biológico*, S. Paulo, 17 : 175-181.
 - 5 — MEYER, J. R. — 1946 — Tentativas para separação da substância que se forma nos líquidos de cultura de "Penicillium notatum". *Arq. Inst. Biológico*, S. Paulo, 17 : 163-173.
 - 6 — WAKSMAN, S. A. e E. S. HORNING — 1945 — Two antagonistic fungi, Aspergillus fumigatus and Aspergillus clavatus and their antibiotic substances. *J. Bact.*, 45 : 233-248.
 - 7 — WEINDLING, R. e E. H. EMERSON — 1936 — Isolation of toxic substances from culture filtrates of Trichoderma and Gliocladium. *Phytopathology*, 26 : 1068-1070.
 - 8 — WILKINS, W. H. e G. C. M. HARRIS — 1945 — Investigation into the production of bacteriostatic substances by fungi. *Brit. Mycol. Soc. Transact.*, 27 : 113-120.
-

A DOENÇA DE AUJESZKY EM SUINOS NO BRASIL

POR

V. Carneiro e W. H. Cardim

Do Instituto Biológico de S. Paulo

O objetivo dêste trabalho é assinalar a ocorrência no País de uma epizootia de doença de Aujeszky em suínos, com um quadro clínico de sintomas nervosos, alta mortalidade, e comprovada pelo isolamento do vírus de leitões necropsiados no foco.

Em trabalhos anteriores (5-6) em 1939 e 1941, pela pesquisa de anticorpos neutralizantes do vírus, demonstramos a presença da infecção dada pelo vírus de Aujeszky em suínos no nosso meio rural, nos focos surgidos no gado bovino. Mas nossas tentativas para isolar o vírus diretamente do porco, ou para surpreender epizootias nesta espécie, vinham sendo de resultados negativos. E' esta, pois, a primeira epizootia em suínos assinalada no País. Contamos atualmente 34 amostras de vírus isoladas de focos da doença em bovinos, uma amostra isolada de carneiro (7) e agora a primeira amostra originária do porco.

A dificuldade no isolamento de amostras do vírus procedentes do porco, nos surtos epizooticos, está em que o diagnóstico clínico da doença de Aujeszky não é geral fixado: a doença passa ignorada ou confundida com outras, não sendo ainda bem conhecidas entre nós as características especiais com que ela se manifesta nesta espécie. Mesmo nos Estados Unidos a infecção do porco, demonstrada pela técnica de sôro-neutralização, foi revelada como muito frequente em 1935 e as epizootias clinicamente caracterizadas, comprovadas pelo isolamento do vírus, só foram assinaladas pela primeira vez, em 1942.

Se é exato que as primeiras epizootias na Europa, bem estudadas no porco, foram em geral benignas, deve-se assinalar que os estudos posteriores acentuaram a sua gravidade em leitões, como vamos ver, pelo que se torna necessário chamar a atenção para a ocorrência de focos idênticos que devem ser frequentes no nosso meio. Os prejuizos podem alcançar 30-40% dos leitões atingidos; a doença é fatal e em alguns surtos se assinalam índices de letalidade bem mais altos.

Há porém, outro aspecto do problema pelo qual esta constatação se torna importante. Em trabalhos anteriores (5-6), confirmando e extendendo estudos fundamentais de SHOPE (24-25-26), realizados acêrca dos surtos norte-americanos da doença, demonstramos que nos focos brasileiros, quando uma epizootia irrompe no gado, a infecção em suínos é muito frequente. Exames de 80 sôros de suínos, procedentes de sete focos da doença no gado, pela técnica de anticorpos neutralizantes, revelaram 49 sôros positivos, o que mostra um índice de infecção de 60%. Se a infecção no porco se mostrava dêsse modo frequente, ou o porco seria no nosso meio muito resistente ao vírus, sem doença clinicamente caracterizada, hipótese pouco provável, porque se afastaria do que se verifica em outros países, ou a verificação de uma epizootia em leitões deveria ser forçosamente alcançada.

O comportamento do vírus de Aujeszky em suínos no nosso meio rural é, pois, idêntico ao que ocorre nos outros países onde a doença nessa espécie já está assinalada: êle produz em leitões o mesmo tipo de epizootia grave. Esta verificação concorre para documentar estudos anteriores, reforçando-lhes as conclusões pelas quais o aparecimento dos surtos em bovinos resulta do contágio através do porco, como portador de vírus, de acôrdo com os dados fixados por SHOPE em 1935. Como assinalamos em 1941, (6) nos focos brasileiros domina esta característica epidemiológica fundamental: a doença só aparece nos locais onde existe contato permanente ou acidental, do gado bovino com porcos, no curral, no mangueirão, no terreiro ou mesmo no pasto.

Considerando que os estudos importantes sôbre a doença no porco, de quadro clínico diverso do que se verifica nas outras espécies sensíveis à doença natural, são pouco conhecidos no nosso meio, parece indicado rever ràpidamente os dados essenciais reunidos da literatura especializada do assunto e só bem fixados a partir de 1930.

* * *

Em 1914, na Ungria, RATZ assinala pela primeira vez casos da doença de Aujeszky no porco doméstico e no porco selvagem. Até então a doença era assinalada no boi, no carneiro, cão, gato e rato. MANNINGER em 1922 volta a assinalar outros casos com sintomas nervosos e cura. Na Rumania casos da doença no porco se assinalam desde 1920, referidos por RIEGLER (11) e em 1925, BORY (1) fornece a respeito informações muito precisas, que são em geral esquecidas na literatura do assunto, pois até 1931 continua-se a consi-

derar o porco como resistente à doença. Quatro casos são vistos em uma semana, um caso no cão ocorre no mesmo local e sintomas considerados típicos da doença naquela espécie são descritos: inapetência, andar trôpego, movimentos forçados de mastigação, movimentos em círculo, tremores generalizados, convulsões; lesões de encefalomielite são encontradas. BORY deve ter sido ainda o primeiro autor a fornecer documentação segura do diagnóstico da doença no porco, pois isola o vírus do sistema nervoso central, reproduzindo no coelho a infecção experimental com período de incubação de 40-96 horas. Deve ser êsse o primeiro isolamento de uma amostra de origem porcina.

Em 1931, nos Estados Unidos, SHOPE (23) realiza pela primeira vez a infecção experimental no porco por inoculação subcutânea; mas esbarra num quadro de sintomas tão impreciso que documenta os resultados positivos com a demonstração de anticorpos neutralizantes do vírus no sêro dos porcos que passam por infecção benigna, seguida de cura rápida.

A infecção experimental do porco é em seguida estudada com resultados positivos por BRAGA e FARIA (3), REMLINGER e BAILLY (20-21-22), KÖVES e HIRT (12-13), SHOPE, (24-25), GERLACH e SCHWEINBURG (8). Numerosas vias de inoculação são ensaiadas, subcutânea, digestiva, intramuscular, nasal, câmara anterior do olho, e por contágio direto.

Em seguida a êsses estudos sôbre a infecção experimental, ou ao mesmo tempo que êles eram realizados, extensas epizootias na mesma espécie, até então desconhecidas, são diagnosticadas e estudadas na Holanda em 1932 e na Hungria em 1934. Na Holanda, BURGGRAAF e LOURENS (16) estudam uma epizootia que atingiu cerca de 700 suínos, quando até então se assinalavam casos isolados nesta espécie. A doença tem curso benigno, sintomas transitórios e vagos, e quase todos os casos evoluem para a cura. Na Hungria, KÖVES e HIRT (12-13) realizam um estudo completo dessas epizootias, cuja natureza era a princípio obscura e cujo diagnóstico foi fixado com dificuldade. As epizootias ali atingem milhares de animais, são mais ou menos frequentes, são benignas, embora mais graves que as da Holanda: a mortalidade é em geral de 2%, raramente alcançando 5%. O quadro clínico é, de um modo geral, atípico, na grande maioria dos animais atingidos, e apenas em 5-10% dos casos se desenvolvem sintomas nervosos. Pelo estudo dêsses casos, que revelam envolvimento do sistema nervoso central, o vírus de AUJESZKY é isolado e o caminho é assim aberto à verificação surpreendente de que as epizootias, em seu conjunto benignas e atípicas, disseminadas pelos efetivos, eram produzidas pelo mesmo vírus.

Procurando reconstruir o histórico dessas epizootias, KÖVES e HIRT (13) conseguem verificar que surtos idênticos eram descritos desde 1909, mas sem que o diagnóstico correto tivesse sido fixado; surtos anteriores assinalados por WEISS em 1909, por SCHMIEDHÖFFER em 1910 e outros mais, eram já produzidos pela doença de Aujeszky, mas passaram ignorados durante cerca de 25 anos.

O quadro clínico esquemático dessas epizootiasa pode ser traçado do seguinte modo (13).

Elevação termica que pode alcançar 41°C, perda do apetite, grande prostração, vômitos e às vezes diarreia, sintomas que evoluem em 1-3 dias, seguidos de cura completa e surpreendente, pois a intensa prostração faz pensar em morte certa. É apenas esse conjunto de sintomas vagos que se verifica na epizootia que atinge 40-60% de uma criação. Antes de ser fixada a causa especifica, era impossivel, como se vê, pensar em doença de Aujeszky, em face de um quadro tão diverso do que se verifica em tôdas as outras espécies. É um quadro completamente atípico, de uma infecção geral, ou de uma intoxicação.

Mas em 5-10% dos suínos de uma criação atingida, sintomas nervosos se instalam. Sucede porém que os sintomas nervosos são ainda atípicos, pois o prurido intenso, que é a marca característica da doença nas outras espécies, aqui não se verifica senão raramente. O quadro clinico nesse conjunto que revela comprometimento do sistema nervoso central, assim se resume: prostração intensa, imobilidade, como que fixado o animal num só ponto, ou corridas incessantes em várias direções, agitação, marcha oblíqua, para a direita ou para a esquerda, diarreia, contraturas, convulsões generalizadas e às vezes apoio da cabeça contra a parede, esforços para subir na parede, rangido de dentes, movimentos de sucção, gemidos dolorosos, baba abundante, paralisias dos membros posteriores, ou dos anteriores, ou da língua. Uma complicação frequente é o edema da laringe. É, pois, o quadro de uma encefalomielite.

A mortalidade alcança nessas epizootias, em geral, 5% no máximo dos que adoecem. Nos leitões, no entanto, altos índices de letalidade são depois assinalados. HIRT (10), mesmo na Hungria, assinala que 95% dos leitões novos são dizimados; nos Estados Unidos surtos em leitões novos de menos de duas semanas, dão índice de mortalidade de 96% segundo McNUTT e ALICE (18) e RAY (19), nas mesmas condições, encontra 44%; na U. R. S. S. de mesmo modo, LUKASHEV e ROTOV (17) falam de perdas consideráveis entre leitões.

A doença no porco é extremamente contagiosa, fato importante assinalado por KÖVES e HIRT (13) nas epizootias na Ungria e estudado de modo especial por SHOPE (24-25); um porco normal, em contato com um doente, adoece depois de um periodo de incubação de 5 dias em média. O virus se encontra no sistema nervoso central e ainda no baço e no pulmão.

A presença do virus no pulmão, como vamos ver, explica o caráter contagioso da doença no porco.

* * *

Em 1934 SHOPE (24) logo assinala, igualmente, o caráter contagioso da doença no porco, no estudo da infecção experimental. Demonstra que o nariz serve de porta de entrada e de via de eliminação do virus. A doença típica e fatal no coelho póde ser reproduzida, esfregando a pele lesada contra o focinho do porco, ou inoculando o lavado nasal. Este elimina o virus durante um periodo

de 11 dias, do 5.º ao 15.º dia de infecção por contato. Em outros casos o período contagiante é curto e dura apenas 1-2 dias. Pela pesquisa de anticorpos neutralizantes do vírus em sôros de suínos da região do Middle West dos Estados Unidos, SHOPE verifica que a infecção do porco, ignorada, é muito frequente. Em presença dêsse conjunto de dados, considera que o porco é portador de vírus e transmite a doença ao gado pelo contato do focinho com lesões da pele ou de mucosas.

Até 1941 a doença clinicamente caracterizada, ocorrendo no porco em condições naturais, não era ainda assinalada nos Estados Unidos (27). Mas em 1942, Mc NUTT e ALICE (18) descrevem epizootias em Iowa, isolam três amostras de vírus e assinalam alta mortalidade em leitões: em 176 leitões de menos de duas semanas, morrem mais de 100 em menos de 15 dias, o que dá um índice de mortalidade de 56%; em Nebraska, em 1943, RAY (19) tem caso idêntico: em 190 leitões novos, morrem 84 (44%).

O isolamento do vírus de suínos está igualmente realizado na Espanha (28) e na Irlanda (14). Na Alemanha a infecção em suínos foi revelada pela prova de sôro-proteção (9).

* * *

Como assinalamos anteriormente, procurando confirmar e estender aos focos brasileiros da doença, os dados estabelecidos por SHOPE no foco norte-americano, examinamos 80 sôros de suínos, procedentes de sete focos em que a doença surgira no gado bovino. O exame desses sôros foi realizado pela inoculação das misturas vírus-sôro por via intramuscular na cobaia (4). Encontramos assim 49 sôros positivos, ou 60% dos exames realizados. Esses resultados indicavam, pois, que no nosso meio, nos surtos da doença em bovinos, uma alta porcentagem dos suínos havia passado por uma infecção benigna, ignorada, seguida de cura. No foco brasileiro da doença apareciam assim confirmados e completados os dados fundamentais que explicam o mecanismo de contágio do porco ao gado. No Estado do Rio de Janeiro, BRAGA (2), examinando recentemente 20 sôros de porcos, em um foco da doença, encontra 5 sôros positivos e identifica a doença no cão no nosso meio, isolando o vírus deste animal.

Nossas tentativas para isolar o vírus diretamente de suínos forneceram porém, até agora, resultados negativos. Fizemos alguns ensaios, seja recolhendo lavados nasais de leitões, colhidos nos focos, seja realizando necrópsias e inoculando emulsões de baço, pulmão e cérebro. A ausência de vírus nesses casos deve ser explicada pelo desaparecimento do período contagiante, que é no máximo de 11 dias, e pelo número reduzido de necrópsias realizadas.

Restava, pois, demonstrar no nosso meio, onde a doença no gado é muito mais frequente do que em qualquer outro país, ao

lado da infecção no porco, a presença da doença com os sintomas bem definidos. E' o que fazemos neste trabalho.

Em março de 1946, em uma pequena propriedade agrícola de Atibaia, aparece uma estranha mortalidade em uma criação de porcos. O efetivo existente é de 250 suínos, compreendendo 150 leitões. No período de 15-20 dias, até 30 de março, morrem 34 leitões de um a quatro meses de idade, mestiços da raça duroc-jersey. No ano anterior, mais ou menos na mesma época, diz o proprietário, houve mortalidade semelhante. Há cêrca de 15 dias, no início do surto em leitões, morrera um bovino, depois de doença de evolução rápida, prurido intenso e grande lesão traumática em torno do foco pruriginoso. O proprietário informa que os leitões são atingidos por uma coceira intensa em tórno da base da orelha e sintomas nervosos acentuados: quedas, paralisias, andar em roda, contraturas, tremores, rangidos de dentes, baba e morte súbita em 1-2 dias. As primeiras suspeitas antes de uma viagem ao local e de reconstruir o quadro aquí resumido, fazem pensar em intoxicação, em cisticercose cerebral, ou em doença de Aujeszky. O diagnóstico definitivo só poderia ser assegurado por um inquérito local, necrópsias e exames de laboratório. As suspeitas da doença de Aujeszky aí se acentuaram, e foi realizada a necrópsia de dois leitões doentes, sendo retirados em glicerina fosfatada de ph 7,2, fragmentos de baço, pulmão e cérebro. Os três materiais foram inoculados separadamente, e forneceram logo, tódos eles, resultados positivos, permitindo isolar o vírus de Aujeszky de baço, de pulmão e de cérebro, como se vê pela tabela 1, onde cada material é inoculado em dois coelhos.

TABELA 1

Inoculação de materiais de leitões para diagnóstico da doença de Aujeszky

Coelho	Material	Via	Dose	Data	Resultados		
					Sintomas	Lesões	Morte
151	Cérebro emulsão	s. cut.	2 cc.	28-3-46	+ 2-4-46	+	sacrificado
152	a 1 p. 10	"	"	"	+ 1-4-46	+	+
153	Baço, emulsão	"	"	"	+ 1-4-46	+	+
154	espessa	"	"	"	+ 2-4-46	+	+
155	pulmão: 1 p. 50 centrifug. a	"	"	"	+ 30-4-46	+	+
156	2.500 rpm. 20m.	"	"	"	—	—	+ 1-4-46

As inoculações, como se vê pela tabela 1, foram tôdas realizadas por via subcutânea no coelho; e por essa via a simples presença de sintomas de coceira na região inoculada é característica e fixa logo o diagnóstico. Ao cabo de 2-4 dias vasta lesão local começa a se desenvolver na região inoculada, consequência da automutilação que os coelhos inoculados praticam. O prurido local é tão típico que alguns animais podem ser logo sacrificados. As inoculações por via cerebral não foram feitas aqui, dada possibilidade de ocasionar morte accidental dos coelhos, por meio de germes patogênicos de que o porco pôde ser com frequência o portador. Apenas um dos coelhos inoculados, n.º 156, não revelou sintomas de prurido, nem lesão local; é encontrado morto pela manhã, o que se deve a uma evolução muito rápida; mas o cadáver apresenta a rigidez típica da doença.

Entre 28-3-46 e 5-4-46, segundo informações, morreram dois cães revelando sintomas de prurido na cabeça. Ambos se haviam alimentado de carne do bovino que adoecera anteriormente. Em 5-4-46 a mortalidade de leitões havia cessado. Cerca de 100 exemplares de *Hematopinus suis* são colhidos de vários leitões e o triturado inoculado no coelho com resultados negativos. Em outro foco, em Pedregulho, uma colheita idêntica foi realizada anteriormente, com o mesmo resultado negativo. SHOPE considera que êste piolho de porco não tem papel na epidemiologia.

* * *

E' necessário, pois, chamar a atenção para a existência de mais uma doença própria do porco, assinalada no nosso meio rural, podendo ocasionar alta mortalidade em leitões, principalmente até duas semanas de idade. O caso aqui referido, em leitões maiores, dá um índice de mortalidade de 22%.

À luz dêsses dados de aquisição mais recente, sôbre a doença no porco, o capítulo da doença de Aujeszky poderia ser mesmo, baseado nos índices de frequência, extensão do contágio, origem dos surtos e importância epidemiológica, completamente alterado no seu conjunto. Poder-se-ia descrevê-la como uma doença primária própria do porco, de caráter benigno em geral, mas grave nos leitões, e manifestando-se secundariamente, sob a forma de casos esporádicos, de evolução rápida, caracterizada pelo intenso prurido, nos bovinos, ovinos, caprinos, no cão e no gato.

AUJESZKY'S DISEASE IN SWINES IN BRAZIL

A b s t r a c t

In previous papers (1939, 1941) the senior author demonstrated, by searching for neutralizing antibodies from pigs living in the foci of the disease in cattle, that this infection is very frequent in this country. In 80 samples of sera from 7 foci in the interior of the state of São Paulo, 49, or 60 percent of the total, proved positive.

No results were obtained in attempts at isolating the virus from pigs or at detecting epizooties in shoats.

In this paper an out-break of the disease in shoats is described for the first time in Brazil. In one lot of 150 young pigs, 34 died within 20 days. The virus was isolated from the brain, lungs and spleen of one of the dead shoats in the focus.

Aujeszky's Disease is a new mortality factor for shoats to be considered in this country.

For a definite diagnosis the isolation of the virus is needed.

All epidemiological and experimental data point the pig as a carrier of the virus and source of infection, for the cattle. The disease appears only in cattle living in contact with pigs and the prophylaxis consists in keeping both species in different quarters. In Brazil — the biggest known focus of the disease in cattle — we isolated 34 samples of the virus and besides recorded about 60 foci clinically characterized.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — BORY, A. — 1925 — Cas de maladie d'Aujeszky chez de porc. Allategeszeguy, 5: 57, An. in *Rev. Gen. Med. Vet.*, 35: 443.
- 2 — BRAGA, A. — 1946 — *Conceitos experimentais e imunológicos sobre a doença de Aujeszky*. 144 pp. Tip. J. Gonçalves, Niterói, E. do Rio.
- 3 — BRAGA, A. e A. FARIA — 1934 — Paralisia bulbar infectuosa — *Rev. Dep. Nac. Prod. Animal*, 1: 53-153.
- 4 — CARNEIRO, V. — 1940 — A cobaia no estudo experimental da doença de Aujeszky. *Arq. Inst. Biol.*, S. Paulo, 11: 97-106.
- 5 — CARNEIRO, V. — 1939 — Anticorpos neutralisantes do vírus da doença de Aujeszky em sôros de porcos no Brasil. *Arq. Inst. Biol.*, S. Paulo, 10: 305-312.
- 6 — CARNEIRO, V. — 1941 — A doença de Aujeszky em suínos no Brasil, nos focos de epizootias em bovinos pela pesquisa de anticorpos neutralisantes. *Arq. Inst. Biol.*, S. Paulo, 12: 243-281.

- 7 — CARNEIRO, V. e O. LEME, — 1939 — Sobre a doença de Aujeszky nos ovinos e caprinos. *Rev. Soc. Paul. Med. Vet.*, 5: 1-6.
- 8 — GERLACH, F. und F. SCHWEINBURG — 1935 — Experimentelle Untersuchungen über die Aujeszky'schen Krankheiten. *Zeit. f. Infek. Krankheiten*, 48: 270.
- 9 — HEINEN, K. — 1941 — Untersuchungen über den Nachweis und das Vorkommen der Pseudowut bei Schweinen in Deutschland. *Zeit. f. Inf. Krankheiten*, 57: 179.
- 10 — HIRT, G. — 1935 — Beiträge zur Aujeszky'schen Krankheit der Saugferkel. *Arch. f. praktische und wissenschaftliche Tierheilkunde*, 70: 86-94.
- 11 — JONNESCO, D. — 1934 — Contribution à l'étude de la maladie d'Aujeszky. *Ann. Inst. Pasteur*, 53: 554-563.
- 12 — KÖVES, J. — 1935 — La maladie d'Aujeszky. *Bull. Off. Int. Epizooties*, 10: 241-272.
- 13 — KÖVES, J. und G. HIRT — 1934 — Über die Aujeszky'schen Krankheiten der Schweine. *Arch. f. Wissenschaftliche u. prakt. Tierheilk.*, 68: 1-23.
- 14 — LAMONT, H. G. — 1946 — Observations on Aujeszky's disease in Northern Ireland. *The Vet. Rec.*, 58: 621. An. in *Bull. off. Int. Epizot.*, 27: 178-180.
- 15 — LASLO, H. — 1938 — Boala lue Aujeszky ca epizootie a purceilor sugari. *Rev. Med. Vet. Bucuresti*, 50: 301-317. An. in *Vet. Bull.*, 11: 521. (1941).
- 16 — LOURENS, L. — 1935 — La maladie d'Aujeszky. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 10: 199-240.
- 17 — LUKASHEV, I. and V. I. ROSTOV — 1939 — Epizootology of Aujeszky disease. *Sovyet. Vet.*, n.º 7 p. 51. An. in *Vet. Bull.*, 12: 582.
- 18 — MC NUTT, S. H. e F. J. ALICE — 1942 — Doença de Aujeszky em suínos. *Bol. Soc. Bras. Med. Vet.*, 11: 61-67.
- 19 — RAY, J. D. — 1943 — Pseudorabies in suckling pigs in the United States *The Vet. Med.*, 38: 178-179.
- 20 — REMLINGER, P. et J. BAILLY — 1933 — Transmission de la maladie d'Aujeszky au porcelet, *C. R. S. Biol.*, 113: 36.
- 21 — REMLINGER, P. et J. BAILLY — 1933 — La maladie d'Aujeszky et le porc. *Bull. Ac. Vet. de France*, 6: 169-179.
- 22 — REMLINGER, P. et J. BAILLY — 1938 — *La maladie d'Aujeszky*. pp. 204, Masson et Cie, éditeurs, Paris, VIe.
- 23 — SHOPE, R. — 1931 — An experimental study on "mad itch" with special reference to its relationship to pseudorabies. *J. Exp. Med.*, 54: 233-248.
- 24 — SHOPE, R. — 1934 — Pseudorabies as a contagious disease in swine. *Science*, 80: 102-103.
- 25 — SHOPE, R. — 1935 — Experiments on the epidemiology of pseudorabies. *J. Exp. Med.*, 62: 85-99.

- 26 — SHOPE, R. — 1935 — Experiments on the epidemiology of pseudo-rabies. *J. Exp. Med.*, 62: 101-117.
- 27 — SHOPE, R. — 1941 — Problems in the epidemiology of virus diseases. *The Illinois Health Messenger*, march., 1.
- 28 — STEINER, A. et C. LOPEZ — 1935 — La maladie d'Aujeszky in Espagne. *Rev. Gen. Med. Vet.*, 44: 257-258.
-

REESTRUTURAÇÃO GENÉRICA DA FAMÍLIA "RHINONYSSIDAE VITZTHUM, 1935" (ACARI MESOSTIGMATA: GAMASIDES) E DESCRIÇÃO DE ALGUMAS ESPÉCIES NOVAS.

POR

M. P. de Castro

Do Instituto Biológico de S. Paulo

Com 40 figuras no texto

INTRODUÇÃO

Ao sair à luz a revisão dos ácaros nasícolas das aves, por VITZTHUM (1935), os *Rhinonyssidae* compreendiam sete gêneros, que o autor separou em dois grupos segundo a presença ou ausência de peritrema nos estigmas. No primeiro grupo colocou os gêneros *Sternostoma* e *Sternostomum*, deixando no segundo os gêneros *Rhinonyssus*, *Rhinonyssoides*, *Neonyssus*, *Ptilonyssus* e *Ptilonyssoides*.

Retomando o estudo destes ácaros, até agora muito pouco investigados, tivemos a oportunidade de estudar abundante material graças à cooperação de várias pessoas que tiveram a gentileza de colaborar, seja enviando-nos material, seja classificando os hospedeiros: W. BOKERMANN, R. BUENO, E. A. DE CAMARGO, J. DONATO, M. J. DE MELLO, J. R. DE OLIVEIRA, C. PEREIRA, E. X. RABELLO, A. SERRÃO SAMPAIO, E. TRAPP, L. TRAVASSOS, L. TRAVASSOS FILHO, C. DA CUNHA VIEIRA e P. E. VANZOLINI. A todos deixamos expressos os nossos agradecimentos.

Agradecemos a C. PEREIRA a orientação e crítica na execução deste trabalho, a L. TRAVASSOS FILHO as sugestões que apresentou ao ler o manuscrito, e a PHILLIP P. LEVINE a revisão do sumário em inglês.

SISTEMÁTICA

Consultada a literatura relativa ao grupo verificamos a existência de uma confusão a respeito da conceituação de *Rhinonyssus*, *Sternostoma* e *Sternostomum*, que é oportuno desfazer.

Sternostoma BERL. et TROUESS., 1889 tem como espécie-tipo *S. cryptorhynchum* BERL. et TROUESS.; ao descrever uma nova espécie

no mesmo gênero — *S. rhinolethrum* — TROUESSART (1895) pretendeu corrigir a grafia do gênero, emendando-a para *Sternostomum*, o que é vedado fazer em nomenclatura zoológica. VITZTHUM (1935) pretendeu revalidar nomenclaturalmente *Sternostomum* ao verificar que *S. rhinolethrum* não cabia no conceito de *Sternostoma*, o que eliminava a sinonímia entre os dois nomes genéricos.

A conclusão de VITZTHUM, correta zologicamente, foi entretanto prejudicada por seu conceito errôneo do gênero *Rhinonyssus* TROUESS., 1894, que admitiu ser provido de peritrema, em discordância com a diagnose original que apenas menciona um “bourrelet” estigmático, e com a própria espécie-tipo do gênero — *R. coniventrís* TROUESS., 1894 — que não tem peritrema. Por conseguinte, *Rhinonyssus*, *sensu* VITZTHUM (1935) difere do conceito original de TROUESSART (1894), que foi adotado por HIRST (1921) e está a exigir sua individualização nomenclatural e zoológica, o que aproveitamos a oportunidade para fazer neste trabalho, homenageando ao mesmo tempo o operoso acarologista alemão.

Como consequência da restauração do conceito original de *Rhinonyssus* TROUESS., verificamos que *Sternostomum rhinolethrum* entra para esse gênero, tornando-se portanto *Sternostomum* TROUESS. sinônimo de *Rhinonyssus* TROUESS..

Por outro lado, o estudo que pudemos fazer de numerosas espécies do grupo, das quais publicamos agora apenas as que interessam à sua remodelação sistemática, convenceu-nos da necessidade de melhor equilibrar os valores de suas unidades taxonômicas. A tarefa não é das mais interessantes, pois a família toda é extremamente homogênea e, como veremos na discussão, seus caracteres taxonômicos foram em grande parte submetidos a um grande relaxamento seletivo em virtude das peculiaridades ecológicas do grupo. E' impossível portanto fugir a um certo grau de arbítrio na sua classificação, que tem mais caráter de conveniência do que pretensões filogenéticas.

Tomamos como caráter básico para a subdivisão da família a presença ou não de peritrema, que VITZTHUM (1935) já havia utilizado como entrada de sua chave, o que resulta em duas subfamílias, das quais uma é nova. A subfamília *Rhinonyssinae* TROUESS., 1895 conterà apenas o gênero *Rhinonyssus*, com os subgêneros *Rhinonyssus* (= *Sternostomum*) e *Sternostoma*, além de um subgênero novo. A subfamília nova compreenderá dois gêneros, baseados na forma das peças bucais: *Ptilonyssus*, com os subgêneros *Ptilonyssus*,

Rhinonyssoides e um subgênero novo; e *Neonyssus*, com os subgêneros *Neonyssus*, *Ptilonyssoides* e mais quatro subgêneros novos.

Temos a impressão de que atribuir importância maior aos caracteres do peritrema e das peças bucais é muito mais racional do que considerar os escudos como ponto de partida para a estruturação sistemática do grupo.

O rebaixamento que fizemos de vários gêneros a subgêneros e a criação de subgêneros novos não traduzem nenhuma simpatia especial nossa por tal unidade macrotaxonômica e menos ainda quaisquer das alternativas que MAYR (1942) figura para o caso dos ornitologistas que usam subgêneros, isto é, nem receio de criar gêneros novos nem timidez no desfazer gêneros antigos. A significação é mais simples: escolhendo para caracteres genéricos peculiaridades de significação mais geral, por não nos merecer a devida confiança o comportamento dos escudos, até agora utilizados na distinção dos gêneros, não podíamos entretanto deixar de frizar a existência de "grupos de espécies" dentro dos nossos gêneros, tornados mais amplos. Confiamos que essa medida seja provisória e possa substituir-se por critério mais seguro quando se ampliarem nossos conhecimentos no assunto.

RHINONYSSIDAE (TROUESSART, 1895) VITZTHUM, 1935.

Sin.: *Rhinonyssinae* TROUESSART, 1895, *sensu lato*.

D i a g n o s e : *Gamasides* com o corpo constituído de podosoma e opistosoma, eventualmente demarcados por uma cintura. Estigmas dorsais com peritrema ausente ou muito reduzido. Escudos dorsais com tendência para o esfacelo; escudos ventrais com tendência para o desvanecimento, que decresce dos anteriores para os posteriores. Cerdas dorsais menos desenvolvidas do que as ventrais, podendo mesmo tornarem-se vestigiais. Todas as espécies conhecidas vivem nas fossas nasais das aves, invadindo às vezes os sacos aéreos e os pulmões.

Gênero-tipo: *Rhinonyssus* TROUESSART, 1894.

RHINONYSSINAE TROUESSART, 1895, *sensu stricto*.

D i a g n o s e : *Rhinonyssidae* desprovidos de peritrema. Escudo anal sem área crivada, geralmente rudimentar.

Gênero-tipo e único: *Rhinonyssus* TROUESSART, 1894.

Rhinonyssus TROUESSART, 1894, *sensu lato*.

Diagnose: Com os caracteres da subfamília.

Espécie-tipo: *R. coniventris* TROUESSART, 1894.

Rhinonyssus (Rhinonyssus) TROUESSART, 1894.

Sinonímia: *Sternostomum* TROUESSART, 1895; tipo: *S. rhinolethrum*.

Sommatericola TRÄGARDH, 1904; tipo: *S. levinseni*.

Diagnose: Um escudo único dorsal, podosômico.

Espécie-tipo: *R. (R.) coniventris* TROUESSART, 1894.

Lista das espécies:

Rhinonyssus (Rhinonyssus) coniventris

TROUESSART, 1894.

Hosp.: *Arenaria interpres* (L.)

Pátria: França (TROUESSART); Ilhas Shetland (WATERSTON in HIRST).

Rhinonyssus (Rhinonyssus) rhinolethrum

(TROUESSART, 1895) *n. comb.*

Sin.: *Sternostomum rhinolethrum* TROUESSART, 1895.

Hosp.: Ganso doméstico.

Pátria: França (TROUESSART).

Rhinonyssus (Rhinonyssus) levinseni (TRA-

GARDH, 1904), HIRST, 1921.

Sin.: *Sommatericola levinseni* TRÄGARDH, 1904.

Sternostomum levinsensi (TRÄGARDH, 1904) VITZTHUM, 1935.

Hosp.: *Somateria mollissima* L.

Pátria: Groenlândia (LEVINSEN in TRAGARDH).

Rhinonyssus (Rhinonyssus) caledonicus

HIRST, 1921.

Sin.: *Sternostomum caledonicum* (HIRST, 1921) VITZTHUM, 1935.

Hosp.: *Uria grylle* L.

Pátria: Ilhas Shetland (WATERSTON in HIRST).

Rhinonyssus (Rhinonyssus) waterstoni

HIRST, 1921.

Sin.: *Sternostomum waterstoni* (HIRST, 1921) VITZTHUM, 1935.

Hosp.: *Alca torda* L.

Pátria: Ilhas Shetland (WATERSTON in HIRST).

Rhinonyssus (Rhinonyssus) echinipes HIRST,

1921.

Hosp.: *Charadrius hiaticula* (L.)

Pátria: Ilhas Shetland (WATERSTON in HIRST).

Rhinonyssus (*Rhinonyssus*) *neglectus* HIRST, 1921.

Hosp.: *Calidris maritima* BRÜNN.

Pátria: Ilhas Shetland (WATERSTON in HIRST).

Rhinonyssus (*Rhinonyssus*) *novae-guinae* HIRST, 1921.

Hosp.: *Craspedophora magnifica* (VIEILLOT).

Pátria: Nova Guiné.

Rhinonyssus (*Rhinonyssus*) *orientalis* (EWING, 1933) n. comb.

Sin.: *Sommatericola orientalis* EWING, 1933.

Hosp.: *Lanius* sp.

Pátria: Sião.

Rhinonyssus (*Rhinonyssus*) *technaui* (VITZTHUM, 1935) n. comb.

Sin.: *Sternostomum technaui* VITZTHUM, 1935.

Hosp.: *Cinclus cinclus aquaticus* BCHST.

Pátria: ?

Rhinonyssus (*Sternostoma*) BERLESE et TROUESSART, 1889.

Diagnose: Dois escudos dorsais grandes, um podossômico e outro opistosômico.

Espécie-tipo e única: *R. (S.) criptorhynchum* BERL. et TROUESS., 1889.

Hosp.: *Passer domesticus* L.

Pátria: França (MARTIN in BERLESE et TROUESSART).

Rhinonyssus (*Rhinacarus*), n. subgen.

Diagnose: Dois escudos dorsais; um grande podossômico e outro pequeno opistosômico, êste localizado na parte anterior do opistosoma.

Espécie-tipo e única:

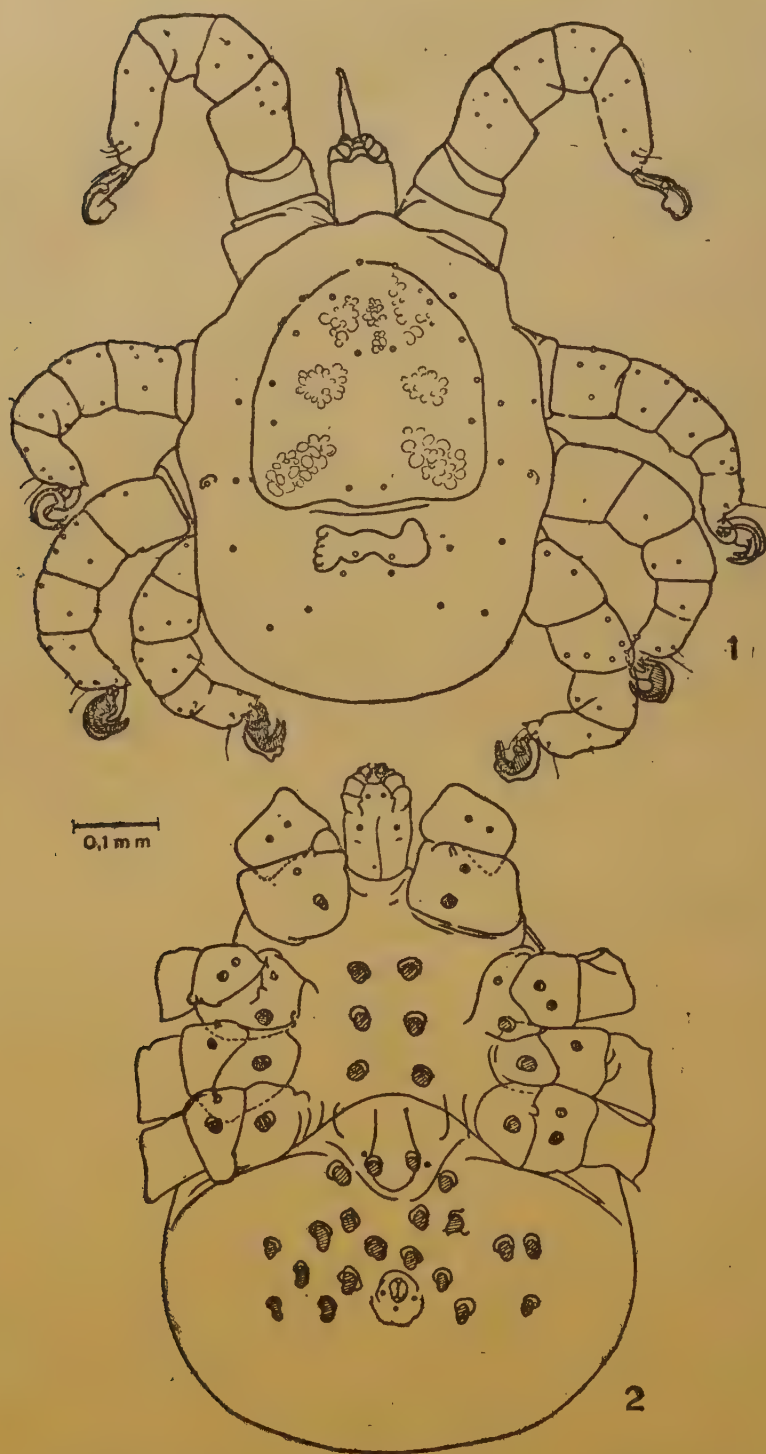
Rhinonyssus (*Rhinacarus*) *angrensis*, n. sp.

Hosp.: *Progne chalybea domestica* (VIEILLOT).

Pátria: Fazenda Japuiba, Angra dos Reis (Estado do Rio de Janeiro), Brasil, LAURO TRAVASSOS FILHO col., outubro de 1945.

Descrição: Figuras 1 e 2.

Corpo de forma oval muito alongado, com pernas bem desenvolvidas, cujo primeiro par se insere bem afastado dos demais e dirige-se para a frente,



Rhinonyssus (Rhinacarus) angrensis, n. sp. : Fêmea. Fig. 1 - face dorsal ; fig. 2 - face ventral.

ladeando o gnatosoma, que é muito pequeno em relação ao tamanho do corpo e das pernas. O material estudado constava de quatro fêmeas e duas ninfas.

Fêmea (figs. 1 e 2)

Face dorsal (fig. 1) — Ao passo que o podosoma é bem recoberto pelo escudo podosômico, fica o opistosoma quasi todo a descoberto em virtude da pequenez do escudo opistosômico e da anterioridade de sua situação. O esclerosamento dos escudos acentua-se mais ao nível de certas linhas, que se entrecruzam irregularmente, formando malhas de tegumento menos esclerosado e finamente ponteadas. Em alguns lugares a pontuação fina desaparece, sendo substituída por aréolas de tegumento liso que assinalam os locais de inserções musculares. O restante do tegumento é finamente estriado e mole. Tanto neste como nos escudos encontram-se aréolas de implantação de cerdas, que se tornaram vestigiais. Os estigmas são laterais ao escudo podosômico e desprovidos de peritrema, assemelhando-se muito a aréolas de implantação de cerdas, conquanto um pouco maiores.

Face ventral (fig. 2) — Ao contrário da dorsal, que é desprovida de cerdas, chama a atenção para a face ventral o desenvolvimento de suas cerdas, muito grossas e curtas, com o diâmetro basal quasi igual ao comprimento e a forma geral de uma língua, pois apresentam secção aproximadamente circular na base, que se vai tornando elíptica distalmente, até achatar-se completamente na extremidade livre.

O escudo esternal, que não existe, tem seu lugar assinalado por três pares de cerdas esternais. A genitália, que obedece ao padrão de toda a família, tem além de um par de cerdas mais duas pequeninas aréolas de implantação.

O abdome é provido de nove pares de cerdas em forma de língua, que não obedecem a simetria muito rigorosa e situam-se anterior e lateralmente ao anus. Este fica num escudo anal vestigial, cujas cerdas circumanais são representadas por três aréolas de implantação muito pequenas.

Pernas — São bem desenvolvidas; os três últimos pares inserem-se juntos e dirigem-se normalmente para os lados, ao passo que as do primeiro par têm inserção aparte e, ladeando o gnatosoma, dirigem-se para a frente. As garras são fortes, com exceção das do primeiro par. As cerdas são mais bem desenvolvidas na face ventral do que na dorsal, onde são rudimentares. As da coxa são iguais às abdominais, as do trocânter menores, sendo muito pequenas as dos articulos restantes, conquanto obedeçam ao mesmo tipo de construção.

Gnatosoma — É muito reduzido em relação ao resto do corpo e pernas; sua porção basal é muito alongada, ocupando mais de dois terços do conjunto, sendo a parte terminal constituída pelos palpos, hipostômio e epistômio. Os palpos são muito curtos, apenas com duas cerdas apicais na extremidade distal do quarto articulo; seu quinto articulo é muito reduzido e incrusta-se no quarto. As quelíceras são rudimentares, assemelhando-se às dos outros componentes da subfamília.

Dimensões — Comprimento: 0,68 mm, exceto o gnatosoma; largura: 0,52 mm.

Ninfa

Assemelha-se muito à fêmea. As cerdas da face ventral são bem me-

nores, embora do mesmo tipo. As garras são bem desenvolvidas nos três últimos pares de pernas, ao passo que no primeiro par são muito reduzidas e têm a proteção do ambúacro.

Dimensões — Comprimento: 0,60 mm, exceto o gnatosoma; largura: 0,42 mm.

P T I L O N Y S S I N A E, n. subfam.

D i a g n o s e: *Rhinonyssidae* com estigmas providos de peritrema e com escudo anal bem delimitado, tendo uma área crivada na sua borda posterior.

Gênero-tipo: *Ptilonyssus* BERLESE et TROUESSART, 1889.

Ptilonyssus BERLESE et TROUESSART, 1889.

Diagnose: *Ptilonyssinae* cujas queliceras apresentam dimorfismo sexual; adelgaçam-se bruscamente nas fêmeas ao longo dos 2/3 a 3/4 distais, para terminarem em minúscula pinça, ao passo que nos machos apresentam diâmetro relativamente uniforme e terminam em pinça fragil, porém longa.

Espécie-tipo: *P. echinatus* BERL. et TROUESS., 1889.

Ptilonyssus (Ptilonyssus) BERLESE et TROUESSART, 1889.

D i a g n o s e: Com dois escudos dorsais, dos quais um grande e podosômico e outro, pequeno, opistosômico posterior ou pigidial.

Espécie-tipo: *P. (P.) echinatus* BERL. et TROUESS., 1889.

L i s t a d e e s p é c i e s:

Ptilonyssus (Ptilonyssus) echinatus BERLESE et TROUESSART, 1889.

Hosp.: *Hirundo rustica* L.

Pátria: Bremen (POPPE in BERLESE et TROUESSART).

Ptilonyssus (Ptilonyssus) nudus BERLESE et TROUESSART, 1889.

Hosp.: *Passer domesticus* L.

Pátria: França (TROUESSART), Itália (BERLESE), e Portugal (A. SERRÃO SAMPAIO in CASTRO & PEREIRA).

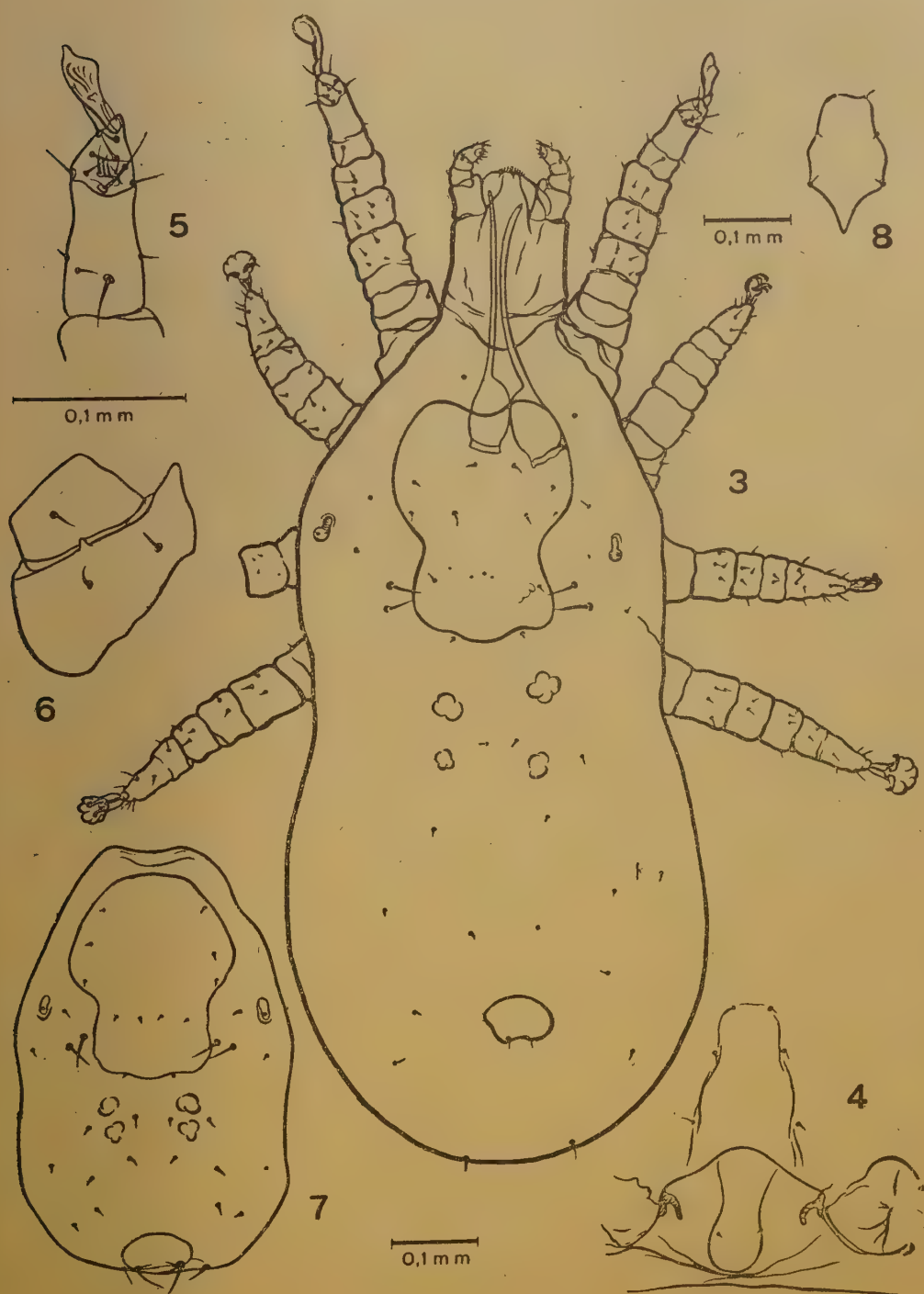
Ptilonyssus (Ptilonyssus) stresemanni VITZTHUM, 1935.

Hosp.: *Procnias alba* (HERMANN).

Pátria: Brasil (TECHNAU in VITZTHUM).

Ptilonyssus (Ptilonyssus) sairae, n. sp.

Hosp.: *Tangara seledon* (P. L. S. MÜLLER).



Itilonyssus (Ptilonyssus) sairae, n. sp.: Figs. 3-6 - fêmea. Fig. 3 - face dorsal; fig. 4 - genitalia; fig. 5 - tarso I; fig. 6 - coxa II. Fig. 7 - ninfa - face dorsal; fig. 8 - ninfa - escudo esternal.

Pátria: Santos (Estado de São Paulo), Brasil, C. PEREIRA col., maio de 1946.

Descrição: Figuras 3 a 8.

Corpo muito alongado, com cintura bem acentuada atrás do quarto par de pernas. Pernas delicadas e gnatosoma relativamente grande. O material estudado constava de 6 fêmeas e 2 ninfas.

Fêmea (figs. 3-6)

Face dorsal (fig. 3) — É recoberta anteriormente pelo escudo podosômico, que se estreita ao nível do terço posterior e torna a se alargar na borda posterior. Os estigmas ficam situados à altura do estreitamento do escudo podosômico. O opistosoma fica quasi todo a descoberto, pois só posteriormente apresenta pequeno escudo pigidal. O restante do tegumento é mole e finamente estriado, apresentando logo abaixo do escudo podosômico quatro zonas areoladas de inserções musculares. Quasi todas as cerdas dorsais são pequenas, sobressaindo porém dois pares que se implantam logo atrás dos estigmas, lateralmente ao escudo podosômico, e um terceiro par posterior ao escudo pigidal.

Face ventral — Apresenta um ligeiro resquício de escudo esternal, que é assinalado por três pares de cerdas. A genitália obedece ao padrão comum no grupo, com um par de cerdas muito pequenas (fig. 4). O escudo anal é piriforme, tendo três cerdas perianais e uma grande área porosa posterior.

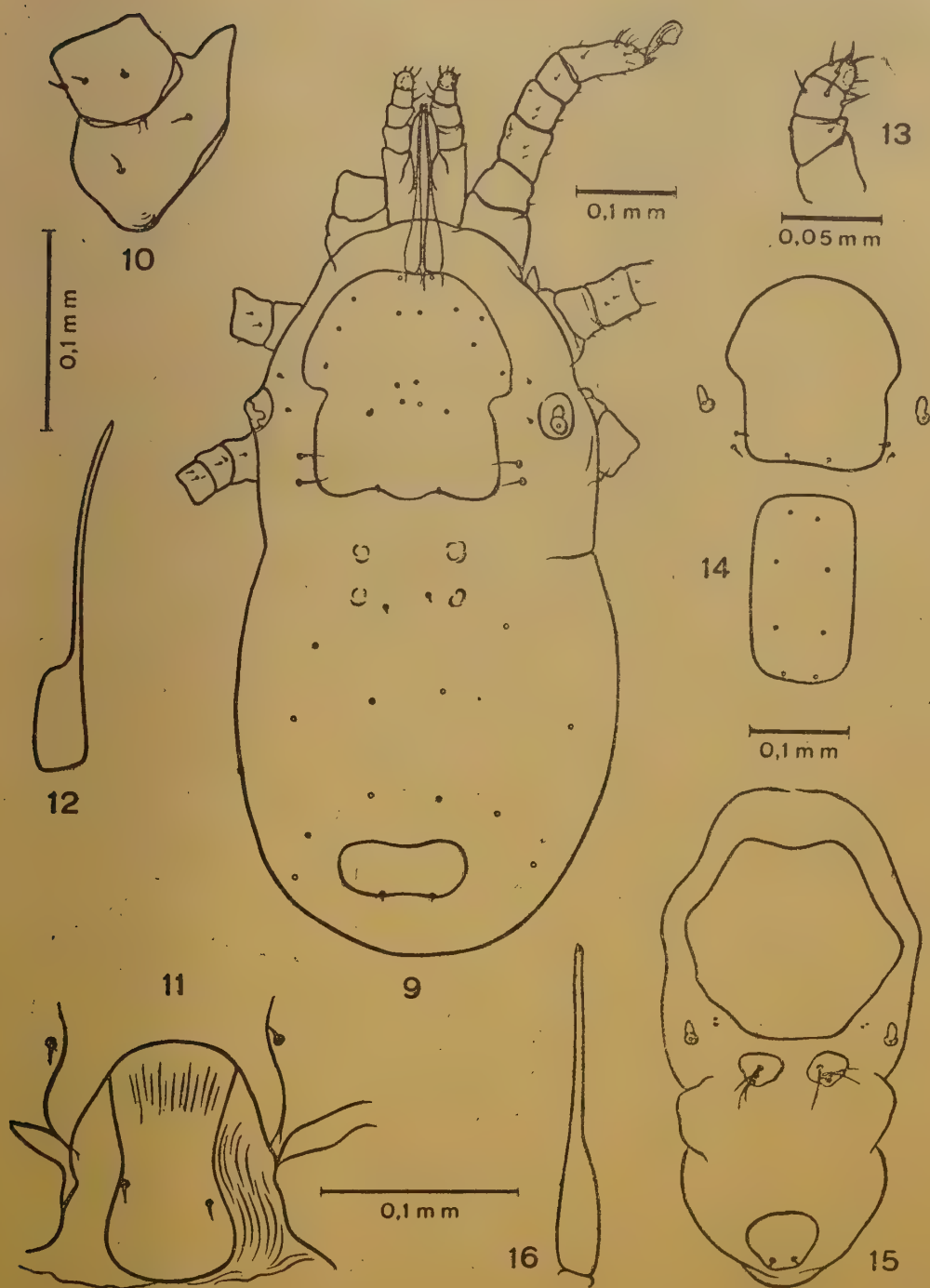
Pernas — São desiguais, com os segundo e terceiro pares menores do que os primeiro e quarto. O tarso do primeiro par tem, na extremidade distal, junto ao ambúacro de garras atrofiadas, uma porção de tegumento membranoso onde se inserem várias cerdas tacteis, entre as quais três na mesma aréola de implantação (fig. 5). As garras das outras pernas são normais e todas revestidas de numerosas cerdas finas, de várias dimensões. A coxa II tem um esporão que se orienta para a frente (fig. 6).

Gnatosoma — É bem desenvolvido, com a porção basal maior do que a terminal. Os palpos são curtos, com o primeiro artículo relativamente muito grande, pois póde alcançar o comprimento do epistômio. O quarto artículo tem uma cerda muito grossa na extremidade distal e o quinto um tufo de cerdas minúsculas. O hipostômio é membranoso e arredondado; o epistômio, também membranoso, resolve-se marginalmente em franja de pelos muito finos. As quelíceras são muito compridas, com 0,27 a 0,28 mm de comprimento, e têm o quarto basal aparentemente muito largo em virtude do brusco adelgaçamento por que passa o restante da peça, que se torna fina e flexível, terminando em minúscula pinça.

Dimensões — Comprimento (exceto o gnatosoma): 0,83 a 0,95 mm; largura: 0,36 a 0,40 mm.

Ninfa (figs. 7 e 8)

O corpo é relativamente mais curto e a cintura não tão acentuada. Os escudos correspondem aos da fêmea. As cerdas pigidiais são maiores do que as da fêmea. Na face ventral há um escudo esternal (fig. 8) pouco esclerosado, sendo o escudo anal igual ao da fêmea.



Figs. 9-14 - *Itilonyssus* (*Ptilonyssus*) *japuibensis*, n. sp.: Figs. 9-13 - fêmea. Fig. 9 - face dorsal; fig. 10 - coxa II; fig. 11 - face ventral; fig. 12 - queliceras; fig. 13 - palpos. Fig. 14 - macho - escudos dorsais. Figs. 15-16 - *Ptilonyssus* (*Flavionyssus*) *rabelloi*, n. sp.: Fêmea. Fig. 15 - face dorsal; fig. 16 - queliceras.

Diagnose diferencial: Afasta-se das outras espécies do subgênero a) pela forma do escudo podosômico, que apresenta no terço posterior um estreitamento suave, correspondente ao nível dos estigmas; b) pelo aspecto das queliceras, que têm o quarto basal aparentemente alargado, ao passo que o restante é muito fino; e c) pelo tamanho relativo do primeiro articulo palpal, bem maior do que os demais.

Aproxima-se de *P. (P.) stresemanni* pela presença de esporão na coxa II, diferenciando-se porém pela altura dos estigmas em relação ao escudo podosômico. Difere de *P. (P.) echinatus* principalmente pela escassez de cerdas abdominais.

Ptilonyssus (Ptilonyssus) japuibensis, n. sp.

Hosps.: *Ramphocelus carbo centralis* HELLMAYR e *Ramphocelus bresilius dorsalis* SCLATER.

Pátria: Fazenda Japuiba, Angra dos Reis (Estado do Rio de Janeiro), Brasil, L. TRAVASSOS FILHO col., outubro de 1945.

Descrição: Figuras 9 a 14.

Corpo alongado, acinturado atrás do quarto par de pernas. Muito semelhante, mas bem menor do que a espécie precedente. O material estudado constava de 6 fêmeas, 1 macho, 1 ovo, 3 proteroninfas e 2 ninfas; uma das proteroninfas encontrava-se em processo de ecdise, mostrando a protoninfa dentro da exsúvia proteroninfal.

Fêmea (figs. 9-13)

Face dorsal (fig. 9) — Assemelha-se muito à de *P. (P.) sairae*, diferindo desta por ter o escudo pigidal relativamente maior.

Face ventral (fig. 11) — Muito semelhante à de *P. (P.) sairae*.

Pernas — São delicadas, tendo as coxas II um esporão semelhante ao da espécie anterior (fig. 10).

Gnatosoma — É mais delicado do que o da espécie anterior. Os artigos dos palpos são normais (fig. 13), não sendo o primeiro muito maior do que os outros. A extremidade distal do segundo articulo é alcançada pelo hipostômio e epistômio membranosos. As queliceras são longas, com o terço basal aparentemente largo (fig. 12), além do qual adelgaçam-se bruscamente, até a extremidade distal, que termina em minúscula pinça.

Dimensões — Comprimento (sem o gnatosoma): 0,52 a 0,66 mm; largura: 0,28 a 0,33 mm.

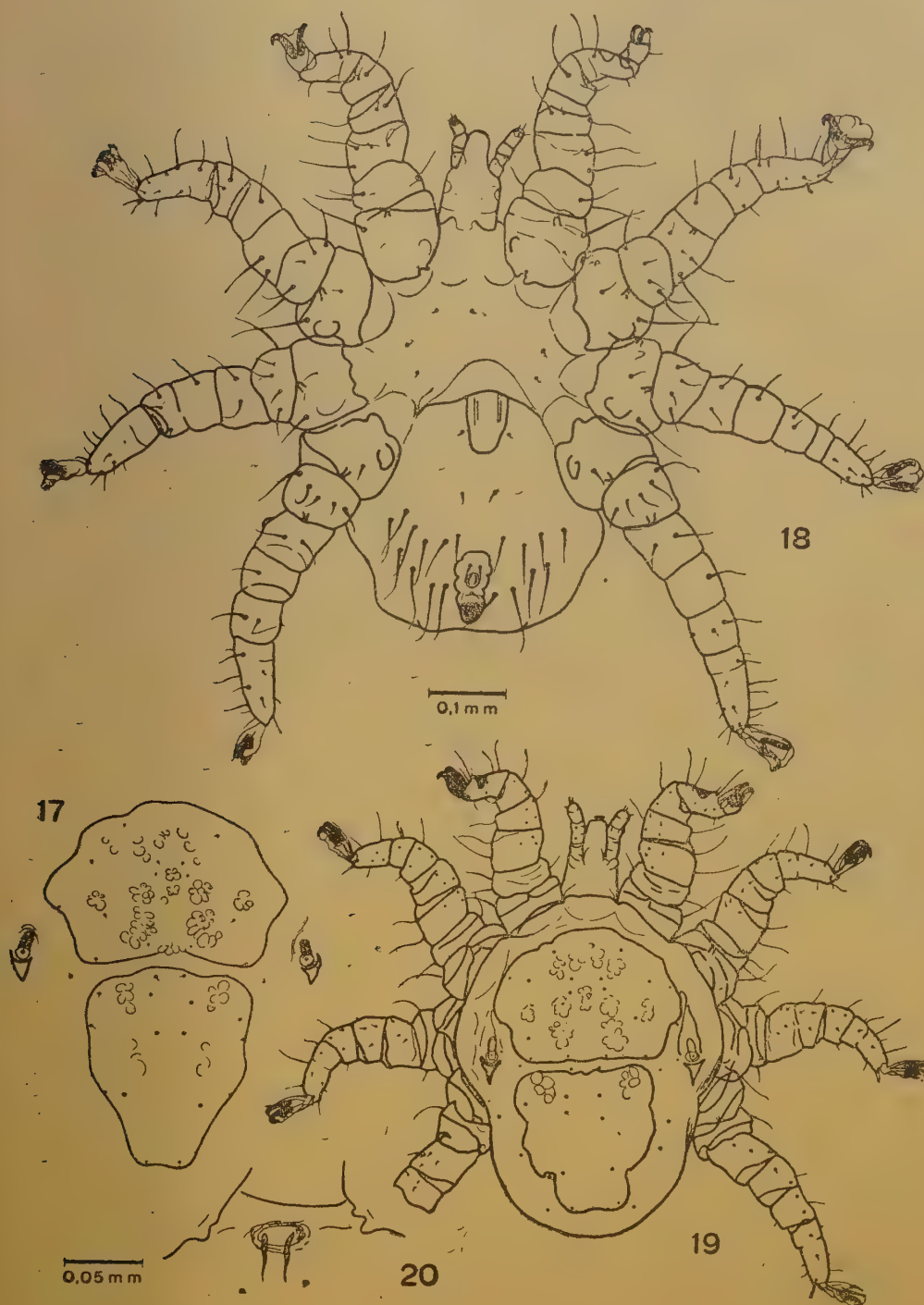
Macho (fig. 14)

Feitio semelhante ao da fêmea, porém com dimorfismo sexual nos escudos, queliceras e garras, de tal ordem que lembra mais o aspecto geral de um *Neonyssus* do que de um *Ptilonyssus*.

Face dorsal — Falta o escudo pigidal, havendo entretanto um grande escudo opistosômico (fig. 14).

Face ventral — O orifício sexual acha-se logo abaixo do gnatosoma.

Pernas — Todas providas de garras iguais.



Neonyssus (Neonyssus) melloi, n. sp.: Figs. 17-18 - fêmea. Fig. 17 - face dorsal; fig. 18 - face ventral. Figs. 19-20 - macho. Fig. 19 - face dorsal; fig. 20 - genitalia.

Gnatosoma — As quelíceras diferem completamente das da fêmea pelo calibre relativamente uniforme em toda a extensão e por terminarem em pinças grandes, porém fracas, de dedos com aspecto folháceo.

Dimensões — Comprimento (sem o gnatosoma): 0,50 mm; largura: 0,25 mm.

Ninfa

Assemelha-se à fêmea e à ninfa de *P. (P.) sairae*.

Proteroninfa

Desprovida de encouraçamento e de estigmas. As garras dos três pares de pernas são iguais. As quelíceras são rudimentares, diferindo das da fêmea e da ninfa.

Diagnose diferencial: Assemelha-se muito a *P. (P.) sairae*, diferindo desta a) por ser muito menor; b) por ter na metade do escudo podosômico uma constrição bem aguda, correspondente ao nível dos estigmas; c) por ter o escudo pigidial relativamente maior; d) a porção distal afilada das quelíceras ocupa apenas 2/3 do seu comprimento, e não 3/4; e e) o primeiro articulo palpal não é muito maior do que os outros.

Difere de todas as outras espécies do subgênero pela forma do escudo podosômico e pela posição dos estigmas.

Ptilonyssus (Rhinyssoides) HIRST, 1921.

Diagnose: Com um único escudo dorsal, podosômico.

Espécie-tipo e única: *P. (R.) trouessarti* HIRST, 1921.

Hosp.: *Sphecotheres maxillaris*.

Pátria: Austrália.

Ptilonyssus (Flavionyssus), n. subgen.

Diagnose: Com um escudo podosômico, um pequeno opistosômico posterior ou pigidial, e mais dois escutelos opistosômicos anterolaterais.

O nome deste subgenero é dado em homenagem ao acarologista F. DA FONSECA.

Espécie-tipo e única:

Ptilonyssus (Flavionyssus) rabelloi, n. sp.

Hosp.: *Sittasomus griseicapillus sylviellus* (TEMMINCK).

Pátria: Juquiá (Estado de São Paulo), Brasil, L. TRAVASSOS FILHO col., setembro de 1947.

Descrição: Figuras 15 e 16.

Corpo alongado, com cintura atrás do quarto par de pernas.

Obtivemos desta espécie somente duas fêmeas, das quais uma mutilada, sem o gnatosoma.

Fêmea (figs. 15-16)

Face dorsal (fig. 15) — É recoberta anteriormente por um escudo podosômico, que se estende até a altura dos estigmas. O opistosoma tem na extre-

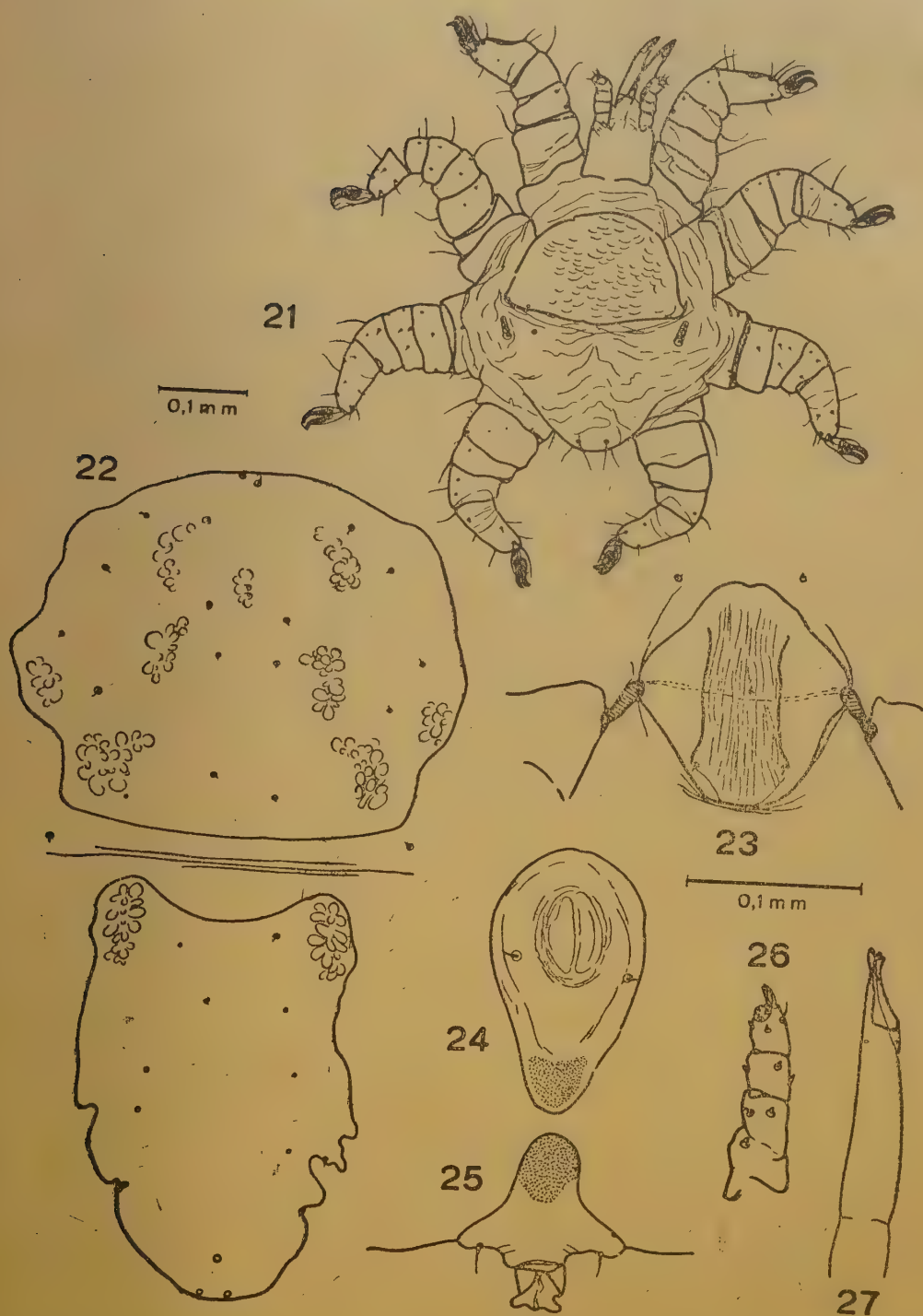


Fig. 21 - *Neonyssus (Neonyssus) melloi*, n. sp.: Ninfa - face dorsal. Figs. 22-27 - *Neonyssus (Neonyssus) setrãoi*, n. sp.: Fêmea. Fig. 22 - face dorsal; fig. 23 - área esternal e genitalia; fig. 24 - placa anal; fig. 25 - operculos anais; fig. 26 - palpos; fig. 27 - quelíceras.

midade posterior o escudo pigidial, semelhante ao dos outros *Ptilonyssus*, e mais dois escutelos ânterolaterais. As cerdas são na maioria pequenas, sobressaindo o par posterior do escudo pigidial e as três cerdas muito grandes e grossas dos escutelos.

Face ventral — Conforme as de outras espécies do gênero.

Pernas — São tôdas do mesmo tamanho, sem protuberância nas coxas. As garras do primeiro par são normais, mas pouco menores do que as outras.

Gnatosoma — Sua base é retangular, mais larga do que alta. Tanto o hipostômio como o epistômio são muito compridos e ponteados, alcançando as dimensões dos palpos. Quelíceras (fig. 16) características do gênero.

Dimensões: O espécime em bom estado havia emergido recentemente e media de comprimento (sem o gnatosoma) 0,50 mm, por 0,26 mm de largura. O espécime mutilado, que estava muito ingurgitado, media 0,75 mm de comprimento por 0,32 mm de largura.

O nome desta espécie é dado em homenagem a E. X. RABELLO, do Departamento de Zoologia.

Neonyssus HIRST, 1921.

Sin.: *Neonyssoides* HIRST, 1923, tipo: *N. nucifragae* HIRST, 1923.

Diagnose: *Ptilonyssinae* cujas quelíceras têm calibre relativamente uniforme.

Espécie-tipo: *N. intermedius* HIRST, 1921.

Neonyssus (*Neonyssus*) HIRST, 1921.

Diagnose: com dois escudos grandes, um podosômico e outro opistosômico, este com a largura maior do que a metade da largura do escudo podosômico.

Espécie-tipo: *N. (N.) intermedius* HIRST, 1921.

Lista das espécies:

Neonyssus (*Neonyssus*) *intermedius* HIRST, 1921.

Hosp.: ?

Pátria: Madagascar.

Neonyssus (*Neonyssus*) *nucifragae* (HIRST, 1923)

VITZTHUM, 1935.

Sin.: *Rhinonyssus* (*Neonyssoides*) *nucifragae* HIRST, 1923.

Hosp.: *Nucifraga caryocactes* L.

Pátria: Prússia Oriental (TISCHLER in HIRST).

Neonyssus (*Neonyssus*) *hirsti* CASTRO et PEREIRA, 1947

Sin.: *Ptilonyssus nudus* BERL. et TROUËSS., 1889 ♂, apud BERLESE (1889); ♀, apud HIRST (1923).

Hosp.: *Passer domesticus* L.

Pátria: Itália (BERLESE), Inglaterra (HIRST), Portugal e Brasil (A. SERRÃO SAMPAIO in CASTRO & PEREIRA).

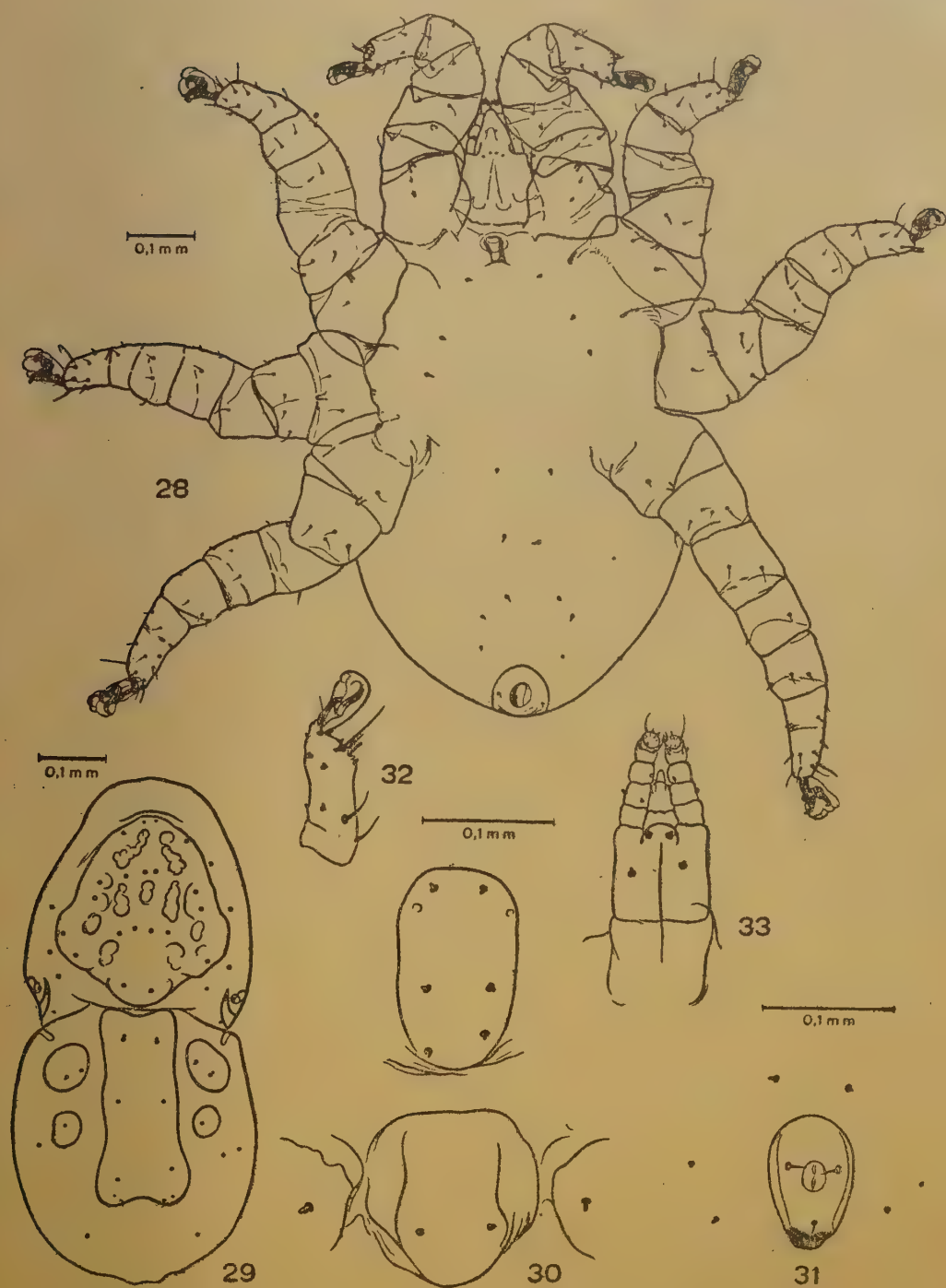


Fig. 28 - *Neonyssus* (*Neonyssus*) *serrãoi*, n. sp.: Macho - face ventral. Figs. 29-33 - *Neonyssus* (*Rochanyssus*) *wernerii*, n. sp.: Fêmea. Fig. 29 - face dorsal; fig. 30 - face ventral; fig. 31 - escudo anal; fig. 32 - tarso I; fig. 33 - gnatosoma.

Neonyssus (Neonyssus) melloi, n. sp.Hosp.: *Columba livia domestica* L.

Pátria: São Paulo (Estado de São Paulo), Brasil, R. BUENO e M. J. DE MELLO col., agosto de 1945.

Descrição: Figuras 17 a 21.

Corpo oval alargado, com cintura pouco acentuada ao nível do quarto par de pernas.

O material estudado constava de 3 fêmeas, 2 machos e 2 ninfas.

Fêmea (Figs. 17-18)

Face dorsal (fig. 17) — É recoberta por dois escudos grandes, um podosômico e outro opistosômico, relativamente bem esclerosados, o que lhes confere coloração ligeiramente acastanhada. A descontinuidade do esclerosamento resulta em linhas de pontuação muito fina, que delineiam discreta escamosidade. O esclerosamento falha em certos lugares, que constituem zonas arredondadas de tegumento liso e assinalam inserções musculares. Os estigmas ficam ao nível da borda posterior do escudo podosômico e são sucedidos por um triângulo estrelado de tegumento esclerosado, com a possível significação de resquício do antigo escudo peritremático. As cerdas dorsais são vestigiais tanto nos escudos como no tegumento mole e rugoso.

Face ventral (fig. 18) — Obedece ao padrão do subgênero. Apresenta três pares de cerdas esternais, um par de cerdas genitais, três pares de cerdas perianais muito pequenas, além de nove a dez pares de cerdas abdominais bem desenvolvidas, que podem alcançar até 150 micra de comprimento.

Pernas — São grossas, com garras fortes e iguais. Suas cerdas são de duas categorias: as dorsais, muito pequenas e as ventrais, muito mais desenvolvidas, que alcançam o porte das ventrais do opistosoma.

Gnatosoma — É bem esclerosado, mas muito pequeno relativamente às pernas e ao corpo. Palpos muito delgados, com o quinto articulo ínfimo, dificilmente perceptível. Epistômio membranoso, anteriormente com o perfil de uma âncora; hipostômio arredondado anteriormente, também membranoso, atingindo o quarto articulo palpal. Quelíceras com pinças fortes e compridas.

Dimensões — Comprimento (sem o gnatosoma) 0,61 mm; largura: 0,41 mm.

Macho (figs. 19 e 20)

Muito semelhante à fêmea mas um pouco menor. Comprimento (sem o gnatosoma): 0,41 a 0,52 mm; largura: 0,34 a 0,41 mm.

Ninfa (fig. 21)

Corpo losângico, donde saem radialmente as pernas. Opistosoma muito reduzido. Um único escudo dorsal podosômico.

Diagnose diferencial: Distingue-se das outras espécies do subgênero por ter: a) pernas muito grossas, tôdas com garras bem desenvolvidas; b) gnatosoma delicado relativamente ao desenvolvimento do corpo e das pernas; c) quelíceras fortes, terminando em pinça longa; d) cerdas da face ventral muito desenvolvidas. Aproxima-se de *N. (N.) intermedius* e de *N. (N.) nucifragae* por ter os dois escudos dorsais aproximados, distinguin-

do-se entretanto por ter o escudo opistosômico mais estreito do que o podosômico e os estigmas ao nível da borda posterior do escudo podosômico, caracteres que estabelecem sua aproximação de *N. (N.) hirsti*.

O nome desta espécie é dado em homenagem ao companheiro de trabalho M. J. DE MELLO.

Neonyssus (Neonyssus) serrãoi, n. sp.

Hosp.: *Rhynchotus rufescens* (TEMMINCK).

Pátria: Estado de Mato-Grosso, Brasil, A. SERRÃO SAMPAIO col.

Descrição: Figuras 22-28.

Corpo oval alargado, graudo, com pernas fortes e grossas, sem cintura e com gnatosoma muito pequeno.

Fêmea (figs. 22-28)

Face dorsal (fig. 22) — O escudo podosômico é o maior, mais largo do que comprido, com duas reentrâncias na altura correspondente aos estigmas. O escudo opistosômico é menor, mais comprido do que largo e de contorno muito irregular. O esclerosamento dos escudos confere-lhes uma textura ponteadas, exceto nos lugares onde áreas arredondadas de tegumento liso assinalam inserções musculares. As cerdas são atroficas e não obedecem a simetria muito rigorosa.

Face ventral — Aspecto semelhante ao das outras espécies do subgênero. Tem três pares de cerdas esternais, um de cerdas genitais (fig. 23) e na placa anal (fig. 24) um par de cerdas perianais em lugar das três cerdas usuais. O anus é grande e mostra, visto de perfil, dois opérculos muito nítidos (fig. 25), ocupando mais de 1/3 do escudo anal. Este é espessado na margem, que lembra uma moldura (fig. 25).

Pernas — Todas iguais, fortes, com cerdas muito finas e curtas.

Gnatosoma — É pequeno em relação ao corpo e às pernas. O epistômio e o hipostômio têm a extremidade livre em ponta romba e alcançam a metade do quarto articulo palpal. Os palpos são delicados (fig. 26) e providos de cerdas curtas e grossas. As queliceras são fortes, com pinças grandes, com dois pequenos dentes no ápice do dedo movel (fig. 27).

Dimensões — Comprimento (sem o gnatosoma): 1,2 mm; largura: 0,76 mm.

Macho (fig. 28)

Muito semelhante à fêmea. Além da abertura genital que o diferencia da fêmea, tem no dedo movel da pinça das queliceras três dentes em lugar dos dois da fêmea.

Dimensões — comprimento (sem o gnatosoma): 0,81 mm; largura: 0,99 mm.

Diagnose diferencial: Muito próxima de *N. (N.) melloi*, da qual se distingue por ter: a) escudo opistosômico mais comprido do que largo; b) cerdas da face ventral pequenas; c) dois dentes na extremidade distal do dedo movel das queliceras da fêmea. Distingue-se das ou-

tras espécies por ter: a) pernas muito grossas, tôdas com garras bem desenvolvidas; b) gnatosoma delicado; c) queliceras fortes, com pinça longa.

O material estudado constava de 7 fêmeas e 4 machos.

O nome desta espécie é dado em homenagem a A. SERRÃO SAMPAIO, do Clube Zoológico do Brasil.

Neonyssus (Rochanyssus) n. subgen.

D i a g n o s e : Um escudo podosômico; cinco escudos opistosômicos, dos quais um é medial e grande e quatro são escutelos opistosômicos laterais.

O nome deste subgenero é dado em homenagem ao Prof. H. DA ROCHA LIMA, diretor do Instituto Biológico.

Espécie-tipo e única:

Neonyssus (Rochanyssus) wernerii, n. sp.

Hosp.: *Elaenia obscura sordida* ZIMMER.

Pátria: Botucatu (Estado de São Paulo), Brasil, W. BOKERMANN, col., setembro de 1947.

D e s c r i ç ã o : Figuras 29-35.

Corpo oval alongado, com cintura bem acentuada atrás dos estigmas. Pernas e gnatosoma delicados.

Fêmea (figs. 29-33)

Face dorsal (fig. 29) — É recoberta por um escudo podosômico e cinco opistosômicos, dos quais um é grande e medial e os outros constituem dois pares de escutelos laterais. As cerdas são de tamanho muito reduzido, com exceção do par posterior do escudo opistosômico mediano. Os estigmas não apresentam particularidade digna de nota.

Face ventral (fig. 30) — Os três escudos são bem delimitados, o esternal com três pares de cerdas curtas e grossas, a genitália com um par de cerdas do mesmo tipo, e o anal (fig. 31) com três cerdas perianais, grossas na base mas que se afilam para a ponta. O tegumento estriado mole tem algumas cerdas semelhantes às escutais.

Pernas — São tôdas do mesmo tipo, com atrofia das garras no primeiro par (fig. 32). Suas cerdas são muito curtas.

Gnatosoma (fig. 33) — É delicado, com as partes basal e terminal sensivelmente iguais, inclusive os palpos. Suas cerdas são muito curtas e grossas.

Dimensões: Comprimento (sem o gnatosoma): 0,868 mm; largura: 0,384 mm.

Macho (figs. 34-35)

É muito semelhante à fêmea.

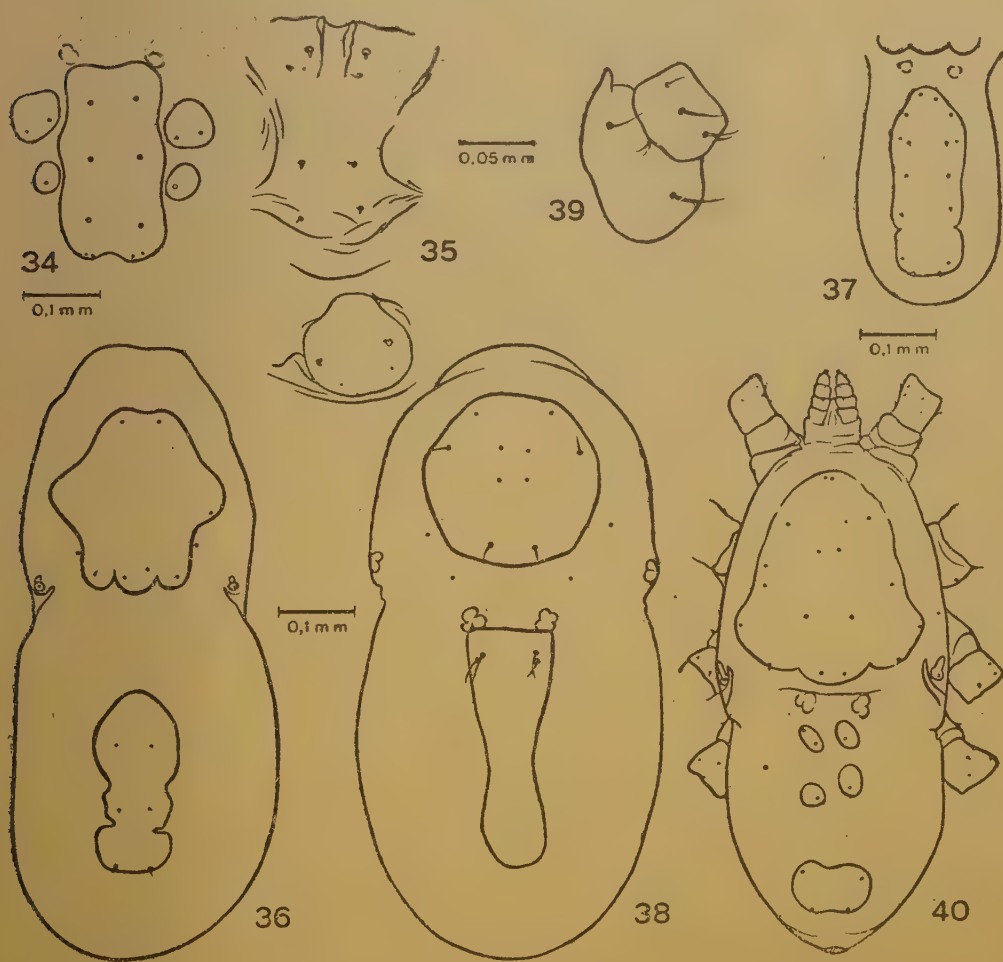
Face dorsal — O escudo opistosômico médio (fig. 34) é relativamente mais largo do que na fêmea, o que o torna mais aproximado dos escutelos laterais.

Face ventral (fig. 35) — Os três escudos são bem delimitados: o esternal, em cuja margem anterior se encontra a abertura genital, apresenta três pares de cerdas iguais às da fêmea; o segundo escudo, com um par de cerdas, localiza-se no lugar correspondente ao escudo genital feminino; o terceiro, que é o anal, assemelha-se ao da fêmea.

Dimensões — Comprimento (sem o gnatosoma): 0,686 mm; largura: 0,343 mm.

O material estudado constou de 6 fêmeas e um macho.

O nome desta espécie é dado em homenagem a WERNER BOKERMANN, do Departamento de Zoologia.



Figs. 34-35 - *Neonyssus (Rochanyssus) wernerii*, n. sp.: Macho. Fig. 34 - escudos opistosômicos; fig. 35 - face ventral. Figs. 36-37 - *Neonyssus (Paraneonyssus) enriettii*, n. sp.: Fig. 36 - fêmea - face dorsal; fig. 37 - macho - escudo opistosômico. Figs. 38-39 - *Neonyssus (Paraneonyssus) travassosfilhoi*, n. sp.: Fêmea. Fig. 38 - face dorsal; fig. 39 - coxa II. Fig. 40 - *Neonyssus (Travanyssus) paranensis*, n. sp.: Fêmea - face dorsal.

Neonyssus (*Paraneonyssus*) n. subgen.

D i a g n o s e : Com dois escudos, um podosômico grande e outro opistosômico longo e delgado, com a largura menor do que a metade da largura do escudo podosômico.

Espécie-tipo:

Neonyssus (*Paraneonyssus*) *enriettii*, n. sp.

Hosp.: *Phylloscartes ventralis ventralis* (TEMMINCK).

Pátria: Estado do Paraná, Brasil, TRAVASSOS FILHO e C. PEREIRA, col., novembro de 1947.

D e s c r i ç ã o : Figuras 36 e 37.

Corpo alongado, com cintura atrás das coxas IV.

Fêmea (fig. 36)

Face dorsal (fig. 36) — Os dois escudos dorsais são finamente ponteados. O escudo podosômico é mais largo em sua parte média, estreitando-se bruscamente tanto para diante como para trás. A borda posterior apresenta duas reentrâncias, que a dividem em três arcos iguais. Os estigmas ficam ao nível da borda posterior deste escudo e precedem um pequeno escutelo triangular como o que ocorre em algumas outras espécies. O escudo opistosômico é mais estreito do que a metade da maior largura do podosômico. Suas bordas laterais apresentam duas reentrâncias, uma posterior, que delimita área correspondente à do escudo pigidial dos *Ptilonyssoides*, e outra a meia altura, menos pronunciada. As cerdas são vestigiais, exceção feita das duas pigidiaias.

Face ventral — O escudo esternal é mal delineado, com três pares de cerdas; o escudo genital tem um par e o anal três cerdas perianais.

Pernas — Tôdas com garras iguais, mas as do primeiro par envolvidas pelo ambúlacro. As cerdas são pequenas, com exceção das tarsais, que são maiores e espiniformes, especialmente uma subapical, nos três últimos pares de pernas, que atinge o comprimento dos ambúlacros, e as do tufo de cerdas tácteis do tarso do primeiro par.

Gnatosoma — É delicado, com a porção basal representando cerca de um terço do total. O quinto articulo palpal só é visível na face ventral. O epistômio e o hipostômio têm o comprimento dos três primeiros articulos palpais. As cerdas são grossas e curtas, destacando-se as duas terminais do quarto articulo e mais duas laterais do mesmo articulo.

Dimensões — Comprimento (sem gnatosoma): 0,592 a 0,707 mm; largura 0,222 a 0,282 mm.

Macho (fig. 37)

Assemelha-se muito à fêmea. Seu escudo opistosômico é bem maior (fig. 37), apresentando lateralmente apenas a reentrância posterior, embora pouco acentuada. A face ventral tem os três escudos característicos da fêmea.

Dimensões — Comprimento (sem gnatosoma): 0,592 a 0,707 mm; largura 0,202 a 0,230 mm.

Ninfa

Além do escudo podosômico, apresentam um escudo opistosômico reduzido apenas ao pigidial, cuja borda posterior tem um par de cerdas mais desenvolvidas do que as do adulto.

O material estudado constou de 8 fêmeas, 3 machos e uma ninfa.

O nome desta espécie é dado em homenagem a M. A. ENRIETTI, Diretor do Instituto de Biologia e Pesquisas Tecnológicas, Curitiba, Paraná.

Neonyssus (Paraneonyssus) travassosfilhoi,
n. sp.

Hosp.: *Philydor lichtensteini* CABANIS et HEINE.

Pátria: Juquía (Estado de São Paulo), Brasil, L. TRAVASSOS FILHO, col., outubro de 1947.

Descrição: Figuras 38 e 39.

Corpo alongado, com cintura atrás das coxas IV.

Fêmea (figs. 38-39)

Face dorsal (fig. 38) — O escudo podosômico é arredondado, com os dois eixos aproximadamente iguais. O escudo opistosômico é muito longo e estreito, apresentando no terço basal um estrangulamento suave. As cerdas são pequenas tanto nos escudos como no tegumento mole, com exceção dos pares de cerdas grandes e pontudas, situadas um par na margem lateral e outro na margem posterior do podosoma, e dois pares nos ângulos anteriores do escudo opistosômico; externamente a estes, mas junto a eles, existe uma zona areolada de implantação de músculos, que indicam uma tendência à redução do escudo opistosômico, pois no gênero *Neonyssus* estão quase sempre tais áreas de implantação muscular compreendidas dentro dos limites do escudo opistosômico.

Face ventral — O escudo esternal tem três pares de cerdas e o genital apenas um par. O escudo anal é piriforme e muito alongado. O anus parece ter sofrido um deslocamento de sua posição habitual, pois ocupa a parte anterior do escudo, deixando para trás as três cerdas que costumam ser perianais, seguidas da área porosa.

Pernas — São delicadas e com garras iguais, mas as do primeiro par são envolvidas por um ambúlacro maior. A coxa II é provida de um esporão dirigido para a frente (fig. 39). As cerdas são muito finas e pequenas, com exceção das espiniformes dos tarsos, uma das quais atinge o comprimento do ambúlacro. O tarso I tem um tufo de cerdas taceis.

Gnatosoma — Sua porção basal é mais alta do que larga e bem mais longa do que a terminal, que atinge o terceiro artigo palpal. Os palpos são delicados, com todos os artigos bem visíveis. As cerdas que mais se destacam são as duas terminais do quarto artigo e o tufo do quinto artigo. As quelíceras são delgadas e se estreitam progressivamente até terminarem em minúscula pinça.

Dimensões — Comprimento (sem gnatosoma): 0,504 a 0,787 mm; largura: 0,282 a 0,363 mm.

Diagnose diferencial — Difere de *N. (P.) enriettii* por ter: a) o escudo podosômico hexagonal arredondado; b) um estreitamento discreto no terço basal do escudo opistosômico; c) um esporão na coxa II; d) maior desenvolvimento das cerdas dorsais.

O material estudado constou de quatro fêmeas.

O nome desta espécie é dado em homenagem a L. TRAVASSOS FILHO, do Departamento de Zoologia.

Neonyssus (Ptilonyssoides) VITZTHUM, 1935.

Diagnose: Um escudo podosômico e dois opistosômicos, dos quais um é ânteromediano e outro é posteromediano ou pigidial.

Espécie-tipo e única: *N. (P.) triscutatus* VITZTHUM, 1935.

Hosp.: *Merops apiaster* L.

Pátria: Europa (TECHNAU in VITZTHUM).

Neonyssus (Travanyssus) n. subgen.

Diagnose: Um escudo podosômico e cinco opistosômicos, dos quais quatro são ânteromediais e um posteromedial ou pigidial.

O nome deste subgenero é dado em homenagem ao Prof. L. TRAVASSOS, do Instituto Oswaldo Cruz.

Espécie-tipo e única:

Neonyssus (Travanyssus) paranensis, n. sp.

Hosp.: *Elaenia flavogaster flavogaster* THUNBERG.

Pátria: Estado do Paraná, Brasil, L. TRAVASSOS FILHO e C. PEREIRA, col.

Descrição: Figura 40.

Corpo oval alongado, com cintura ao nível do quarto par de coxas. Pernas e gnatosoma delicados. O material estudado constou de muitas fêmeas, um macho, duas ninfas e duas proteroninfas.

Fêmea (fig. 40)

Face dorsal (fig. 40) — Dos cinco escudos opistosômicos, um é pósteromediano ou pigidial e os quatro restantes, bem menores, os ânteromedianos, são dois bem anteriores e dois pouco mais posteriores. Tais escutelos não devem ser confundidos com as áreas de tegumento liso que assinalam o lugar de inserções musculares, pois estas são desprovidas de aréolas de implantação de cerdas, existentes nos escutelos, que apresentam por sua vez a mesma textura finamente pontuada dos outros escudos. Os estigmas ficam ao nível da borda posterior do escudo podosômico e seguem-se imediatamente de um escutelo esclerosado semelhante ao observado em outras espécies, como *Neonyssus (N.) hirsti* e *N. (N.) melloi*. As cerdas são muito pequenas, com

exceção de um par na margem posterior do escudo podosômico e outro no pigidial.

Face ventral — Merecem menção especial nesta face as cerdas, que apesar de curtas são grossas e de ponta arredondada.

Pernas — São delicadas e revestidas de cerdas que têm, respectivamente, o caráter das dorsais e das ventrais das faces correspondentes, sendo as dorsais particularmente atrofiadas. As garras do primeiro par de pernas são atrofiadas, e o tarso correspondente tem na base do ambúacro um tufo de cerdas taceis pequenas. As outras pernas têm na extremidade distal do tarso cerdas espiniformes.

Gnatosoma — É delicado, alcançando o epistômio e o hipostômio o segundo artigo palpal. Na face ventral há três pares de cerdas do mesmo tipo das ventrais do corpo. As quelíceras são muito finas e terminam em pinça minúscula.

Dimensões — Comprimento (sem o gnatosoma): 0,65 a 0,79 mm; largura: 0,30 a 0,36 mm.

Macho

Extremamente semelhante à fêmea.

Ninfa

A ninfa tem dorsalmente só dois escudos: um podosômico e outro pigidial; o par de cerdas pigidiaes é muito mais desenvolvido do que o correspondente dos adultos.

Proteroninfa

Não têm escudos. Suas garras são exatamente iguais às encontradas nas pernas das ninfas.

Neonyssus (Vitznyssus) n. subg.

Sin.: *Rhinonyssus*, *partim* VITZTHUM (1935).

Diagnose: Um único escudo dorsal, podosômico.

O nome deste subgenero é dado em homenagem ao acarologista H. G. VITZTHUM.

Espécie-tipo: *N. (V.) nitzchi* (GIEBEL, 1871).

Lista das espécies:

Neonyssus (Vitznyssus) nitzchi (GIEBEL, 1871)
n. comb.

Sin.: *Dermanyssus nitzchi* GIEBEL, 1871.

Rhinonyssus nitzchi (GIEBEL, 1871) VITZTHUM, 1935.

Hosp.: *Caprimulgus europaeus* L. e *Otis tarda* L.

Pátria: Europa (NITZCH in GIEBEL e TECHNAU in VITZTHUM).

Neonyssus (Vitznyssus) squamosus (VITZTHUM, 1935) *n. comb.*

Sin.: *Rhinonyssus squamosus* VITZTHUM, 1935.

Hosp.: *Sericotes holosericeus* (L.).

Pátria: Índia Ocidental (TECHNAU in VITZTHUM).

Chave dos gêneros e subgêneros de *Rhinonyssidae*
(baseada sobre os caracteres da fêmea)

1. Estigmas dorsais sem peritrema (*Rhinonyssinae*: *Rhinonyssus*) 2
- Estigmas dorsais com peritrema (*Ptilonyssinae*) 4
- 2(1). Um escudo dorsal, podosômico subgen. *Rhinonyssus*
- Dois escudos dorsais, podosômico e opistosômico 3
- 3(2). Dois escudos dorsais grandes subgen. *Sternostoma*
- Escudo podosômico grande, opistosômico muito pequeno e ânteromediano subgen. *Rhinacarus*
- 4(1-). Queliceras bruscamente adelgaçadas da metade aos três quartos distais, na fêmea. (*Ptilonyssus*) 5
- Espessura das queliceras relativamente uniforme. (*Neonyssus*) 7
- 5(4). Um escudo dorsal, podosômico subgen. *Rhinonyssoides*
- Mais de um escudo dorsal 6
- 6(5). Dois escudos dorsais, podosômico e opistosômico, na fêmea. subgen. *Ptilonyssus*
- Quatro escudos dorsais, um podosômico e três opistosômicos, dos quais dois ânterolaterais e um pigidial .. subgen. *Flavionyssus*
- 7(4). Um escudo dorsal, podosômico subgen. *Vitznyssus*
- Mais de um escudo dorsal 8
- 8(7). Dois escudos dorsais 9
- Mais de dois escudos dorsais 10
- 9(8). Escudo opistosômico mais largo do que a metade da largura do escudo podosômico subgen. *Neonyssus*
- Escudo opistosômico mais estreito do que a metade da largura do escudo podosômico subgen. *Paraneonyssus*
- 10(8). Três escudos dorsais, um podosômico e dois opistosômicos, dos quais um é ântero e outro é pósteromediano .. subgen. *Ptilonyssoides*
- Seis escudos dorsais, um podosômico e cinco opistosômicos ... 11
- 11(10) Cinco escudos opistosômicos, dos quais um é pósteromediano ou pigidial, e quatro, pequenos, são ânteromedianos subgen. *Trapanyssus*
- Cinco escudos opistosômicos, um grande e mediano e quatro pequenos, laterais subgen. *Rochanyssus*

DISCUSSÃO

O presente trabalho suscita cinco grupos de problemas:

1. Viviparidade nos *Rhinonyssidae*. — VITZTHUM (1935), baseado no encontro de fêmeas que encerravam ovos em estado adiantado de desenvolvimento, admitiu que elas fossem vivíparas, e que esse fenômeno corresse por conta de uma possível dificuldade de desovar no meio rico em muco. O nosso achado de um ovo entre as proteroninfas e ninfas de *Ptilonyssus* (*Ptilonyssus*) *japuibensis* parece tornar supérflua tal hipótese.

2. Supressão da fase ninfal. — VITZTHUM (1935), baseado no fato de não encontrar ninfas no seu material e de não haverem elas ainda sido referidas por ninguém, admitiu que o ciclo vital fosse abreviado no grupo, pela supressão dos estádios ninfais. Entretanto o fato de havermos encontrado, não só na espécie acima referida como em várias outras, estádios ninfais característicos, invalida também esta hipótese.

Tivemos no início a impressão da existência apenas de um estágio ninfal, a julgar pela morfologia dos escudos, que não permite a distinção entre elas. Foi-nos possível no entanto resolver a questão quando levamos em consideração o comprimento dos peritremas em *Neonyssus* (*Travanyssus*) *paranensis*, em que observamos o seguinte: — peritremas de uma protoninfa encerrada ainda na pele de uma proteroninfa: 0,021 mm; peritremas de ninfas (deutoninfas): 0,025 a 0,027 mm; peritremas de uma ninfa em ecdise (deutoninfa), contendo um macho: 0,027 mm; peritremas de machos: 0,027 mm; peritremas de fêmeas: 0,031 a 0,33 mm.

Fica assim demonstrado que, ao menos uma das espécies do grupo é suscetível de ter as fases típicas do desenvolvimento dos *Gamasides*, isto é, proteroninfa, duas fases ninfais distinguíveis pelas dimensões dos peritremas, protoninfa e deutoninfa, e o estágio adulto. Ao passo que são muito significativas as diferenças entre as dimensões dos peritremas das protoninfas, deutoninfas e fêmeas, verifica-se entretanto que são da mesma ordem de grandeza os peritremas dos machos e das deutoninfas.

3. Partenogênese telítoca. — VITZTHUM (1935) admitiu a possibilidade de reproduzirem-se as espécies deste grupo por partenogênese telítoca, em virtude de serem muito poucos os machos descritos, sendo a maioria das espécies conhecidas apenas através das fêmeas. Na verdade, porém, o que se sabe da vida destes bichos é ainda muito pouco para permitir qualquer juízo seguro quanto à sua maneira de reprodução. Entretanto, se a escassez de machos que realmente se observa no grupo for indicativa de partenogênese, esta deverá ser muito mais provavelmente arrenótoca e facultativa, não só pela própria escassez de machos, dos quais descrevemos mais alguns, como pelos precedentes de partenogênese de tal tipo já bem estudados na mesma coorte, em *Liponyssus bacoti* HIRST por OHMORI (1936) e em *Macrocheles muscaedomesticae* (SCOPOLI) por PEREIRA & CASTRO (1947).

4. Dimorfismo sexual. — Os *Ptilonyssinae* oferecem um exemplo interessante de dimorfismo sexual, que tivemos a oportunidade de encontrar em *Ptilonyssus* (*Ptilonyssus*) *japuibensis*. Ao passo que em *Neonyssus* os machos são muito semelhantes às fêmeas, pelo menos na espécie citada são muito diferentes, pois além de terem um escudo opistosômico grande, à maneira de *Neonyssus*, suas quelíceras não são afiladas distalmente. Por isso os caracteres utilizados para a chave de subgêneros somente são válidos para as fêmeas.

5. Comportamento dos escudos. — Já referimos, ao tratar da sistemática, a existência de “grupos de espécies” dentro dos gêneros mais amplos, aos quais demos por comodidade o valor de subgêneros. Se considerarmos os *Rhinonyssidae* portadores de dois escudos dorsais como as formas mais primitivas, isto é, mais afins dos *Gamasides* predadores, e se admitirmos que com a adaptação à vida parasitária estes escudos perderam sua significação como elementos de proteção, com o consequente relaxamento seletivo, a decorrente variabilidade mais ampla desses escudos iria permitir o aparecimento de espécies menos encouraçadas, que é realmente o fenômeno que se observa no grupo.

Ora, o estudo que fizemos de material relativamente abundante permite-nos traçar dois caminhos que pudemos discernir no mecanismo da fragmentação dos gêneros em subgêneros: o simples desgaste dos escudos primitivos ou seu esfacelo. Na verdade é mais frequente a associação dos dois processos.

Os fatos por nós constatados, e que parecem corroborar a hipótese do desgaste, são os seguintes: aparecimento de irregularidades nos contornos dos escudos e cerdas tipicamente escutais acharem-se implantadas no tegumento mole, principalmente quando suas parceiras simétricas ainda se conservam dentro dos limites do escudo, como é observado em *Neonyssus* (*Neonyssus*) *melloi*, *N. (N.) serrãoi* e em outras espécies; finalmente, as áreas de inserções musculares, que deveriam estar incluídas nos escudos, encontram-se às vezes deslocadas para as bordas destes, como em *Neonyssus* (*Paraneonyssus*) *travassosfilhoi*, ou mesmo já um tanto distanciados dos escudos como em *Neonyssus* (*Neonyssus*) *hirsti*. O processo de desgaste acarreta uma redução progressiva do tamanho dos escudos.

Frequentemente, entretanto, o processo de desgaste é sobrepujado por um processo de esfacelo de caráter simétrico, como há indícios em *Neonyssus* (*Paraneonyssus*) *travassosfilhoi* e *N. (P.)*

enriettii, que terá sido provavelmente o mecanismo de diferenciação dos subgêneros *Rochanyssus*, *Paraneonyssus*, *Ptilonyssoides* e *Travanyssus*, no interior do gênero *Neonyssus*, e de *Ptilonyssus* e *Flavionyssus* no gênero *Ptilonyssus*.

Por outro lado, *Vitznyssus*, *Rhinonyssus*, *Rhinacarus* e *Rhinonyssoides* poderiam ter provindo tanto de uma como de outra forma de degradação dos escudos.

Quanto aos subgêneros *Vitznyssus*, *Rhinonyssoides* e *Rhinonyssus*, parecem ter apenas a significação de formas de convergência quanto aos caracteres dos escudos dorsais, representando nos respectivos subgrupos as formas mais degradadas que a adaptação à vida parasitária permitiu aparecessem.

RECLASSIFICATION OF GENERA OF THE FAMILY RHINONYSSIDAE AND DESCRIPTION OF SOME NEW SPECIES

A b s t r a c t

A revision of the family *Rhinonyssidae* Vitz. is presented, and new bases for the classification of genera and subgenera are given.

The family is divided into two sub-families:

1) *Rhinonyssinae* Trouess. *sensu stricto*, includes the species without peritreme, and has the single genus *Rhinonyssus* Trouess., with three subgenera, of which, the first two were genera reduced to subgenera: *Rhinonyssus* Trouess., *Sternostoma* Berl. et Trouess. and *Rhinacarus* n. subgen, that differs from the others in having two dorsal plates. The opisthosomical plate is very small, and retains only its anterior part. The type species of this new subgenus is *Rhinonyssus* (*Rhinacarus*) *angrensis* n. sp. The genus *Sternostomum* Trouess. was created to replace *Sternostoma* Berl. et Trouess., making the latter a nomenclatural synonym. *Sternostomum* Trouess. is also a synonym (zoologically) of *Rhinonyssus* Trouess., therefore according the rules of priority *Sternostomum* is invalid.

2) *Ptilonyssinae* n. subfam., includes the species with peritreme, and has two genera that are distinguished by the shape of the chelicerae: a) *Ptilonyssus* Berl. et Trouess. with the basal part of the chelicerae enlarged, and the distal part very slender. With three subgenera, the first two of which were formed from

the two old genera — *Ptilonyssus* Berl. et Trouess., in which two new species are described: *P. (P.) japuibensis* n. sp. from *Rhaphocelus carbo centralis* Hell. and *Rhaphocelus bresilius dorsalis* Sclater and *P. (P.) sairae* n. sp., from *Tangara seledon*: *Rhinonyssoides* Hirst and *Flavionyssus* n. subgen. The last differs from the others in having two little antero-lateral opisthosomical plates, besides one postero-median or pygidial. The type species of this subgenus is *P. (Flavionyssus) rabelloi* n. sp. from *Sittasomus griseicapillus sylviellus*. b) *Neonyssus* Hirst with caliber of chelicerae relatively uniform from the base to the top. With six subgenera, that include two old genera reduced to subgenera and four new subgenera: 1) *Neonyssus* Hirst in which two new species are described: *N. (N.) melloi* n. sp. from the domestic pigeon, *Columba livea domestica*, and *N. (N.) serrãoi* n. sp. from the partridge, *Rhynchotus rufescens*. The new species differ from the others in having stout legs with well developed claws and a gnathosome small in relation to the body. *N. (N.) serrãoi* differs from *N. (N.) melloi* in having stouter chelicerae with two little teeth in the movable finger and in the absence of well developed setae on the abdomen. 2) *Rochanyssus* n. subgen., differs from the others in having six dorsal plates: one podosomal, the largest, one small median opisthosomical and four lateral opisthosomical, even smaller. The type species of this subgenus is *N. (Rochanyssus) wernerii* n. sp., from *Elaenia obscura sordida*. 3) *Paraneonyssus* n. subgen., differs from the others in having two dorsal plates: a large one podosomal, and the other, long but very slender opisthosomical, the width of which is less than half the width of the podosomal plate. The type species of this subgenus is *N. (Paraneonyssus) enriettii* n. sp., from *Phylloscartes ventralis ventralis*. The subgenus includes also another species *N. (P.) travassosfilhoi* n. sp., from *Philydor lichtensteini*, that differs from the other in the shape of the dorsal plates and in having a spur on coxae II. 4) *Ptilonyssoides* Vitz. has only one known species *N. (P.) triscutatus* Vitz. 5) *Travanyssus* n. subgen., differs from the others in having six dorsal plates: a podosomal one, the largest, and five very small opisthosomical plates.

These include a postero-medial or pygidial and four anteromedial. The type species is *N. (Travanysus) paranensis*, n. sp., from *Elaenia flavogaster flavogaster*. 6) *Vitznyssus* n. subgen., for *Rhinonyssus* (sensu Vitzthum), differs from the others in having but one dorsal plate. The type species is *N. (Vitznyssus) nitzchi* (Giebel, 1871). The other species is *N. (V.) squamosus* Vitz..

In addition, we are able to clear up some important points with regard to viviparity, the shortened life cycle and parthenogenesis as described by Vitzthum. Information is also presented on sexual dimorphism and phylogenetic significance of the dorsal plates. Our finding of an egg and the three nymphal stages, proteronymph, protonymph and deutonymph, definitely contradicts Vitzthum's hypothesis of a shortened cycle, and viviparity. The thelytocous parthenogenesis also presumed by Vitzthum is improbable, because uncovered by us, and Ohmori (1936) and Pereira & Castro (1947) proves the presence of a arrhenotocous one in mites of the same group of the *Gamasides*. The sexual dimorphism is observed here in the genus *Ptilonyssus*, based on the male of *P. (P.) japuibensis*, the only male known in this genus. There is considerable evidence on hand to indicate that the "group of species" which are classified by us as subgenera descended from an ancient type with only two plates covering the entire dorsal surface. It seems entirely probable that the differentiation of the various groups was brought about by a progressive reduction associated with a symmetrical sphacelus of the dorsal plates. This reduction could be explained by the survival of those species with fewer or smaller plates made possible by a habitat in protected environments.

BIBLIOGRAFIA

- BERLESE, A. — 1889 — *Acari, Miriopoda & (Pseudo) Scorpiones hucusque in Italia reperti*. Ordo Mesostigmata 26-28; 53 (10) est. 27; [54 (1) est. 26.
- BERLESE, A. & E. L. TROUESSART — 1889 — Diagnoses d'acariens nouveaux ou peu connus. *Bulletin de la Société de Sciences Naturelles de l'Ouest de la France* (Nantes). (2): 126-130.
- CASTRO, M. P. de & C. PEREIRA — 1947 — *Acaros nasícolas (Parasitiformes: Rhinonyssidae) do pardal — Passer domesticus L., Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo*, 18 (7): 125-133.
- EWING, H. E. — 1933 — New genera and species of parasitic mites of the superfamily Parasitoidea. *Proceedings of the U. S. Natural Museum*, 82 (30): 1-14.

- GIEBEL, C. — 1871 — Ueber einige Milben. *Zeitschrift fuer die gesammten Naturwissenschaften*, 38: 31-32. Apud Vitzthum (1935).
- HIRST, S. — 1921a — On some new or little known Acari, mostly Parasitic in habit. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 1921, p. 357-378.
- HIRST, S. — 1921b — On some new Parasitic Mites. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 1921, p. 769-776.
- HIRST, S. — 1923 — On some new or little-known species of Acari. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 1923, p. 971-1000.
- MAYR, E. — 1942 — Systematics and the origin of species from the viewpoint of a Zoologist. *Columbia University Press*, New York, XIV + 334 pp.
- OHMORI, N. — 1936 — Studies on the tropical rat mite. Second Report — On the sex ratio and parthenogenesis. *The Zoological Magazine, Formosa*, 48(8-10): 627-637.
- PEREIRA, C. & M. P. DE CASTRO — 1947 — Forese e partenogênese arrenótoca em *Macrocheles muscaedomesticae* (Scopoli) (Acarina: Macrochelidae) e sua significação ecológica. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, 18 (4): 71-89.
- TRAGARDH, I. — 1904 — Monographie der arktischen Acariden. Inaugural Dissertation Upsala; 1-78. Reimpresso em 1905 — *Fauna Artica* 4: 1-78.
- TROUESSART, E. L. — 1894 — Notes sur les acariens parasites des fosses nasales des oiseaux. *Comptes Rendus Hebdomadaires de la Société de Biologie* (9.^e série) 7 (1): 723.
- TROUESSART, E. L. — 1895 — Note sur un acarien parasite des fosses nasales de l'oie domestique. *Revue des Sciences Naturelles appliquées*, Bulletin de la Société Nationale d'Acclimation, 42: 392-394.
- VITZTHUM, H. G. — 1935 — Milben aus der Nasenhoehle von Voegeln. *Journal fuer Ornithologie*, 83 (4): 563-587.
-

SÔBRE A PRESENÇA DE LEPTOSPIRA EM SUINOS NO BRASIL

POR

V. O. Guida

Do Instituto Biológico de S. Paulo

A primeira referência encontrada na literatura sôbre leptospirose em suínos é a de WAGENER (6), que descreveu, na Alemanha, a transmissão da doença ao homem. TERSIKH (5), na Rússia, verificou a presença de aglutininas e leptospirolisinas em soros de suínos normais, e MOCHTAR (3), na Batavia, isolou 6 amostras de *Leptospira* de rins de suínos normais; tais amostras não são patogênicas para cobaia ou camundongo e foram identificadas, sorologicamente, ao tipo “pomona”. Testes de aglutinação praticados em 64 sôros de suínos pelo mesmo autor revelaram aglutinação (a 1/100 ou acima) em 26 casos com o tipo “pomona”, em 4 com a *L. icterohemorrhagiae* (amostra Wijnberg), em 2 com a amostra Salinem (que corresponde à espécie *L. australis* de WALCH-SORGDRAGER et al., 1938) e em 1 com o tipo “Rachmat”.

As experiências relatadas neste trabalho fazem parte de uma série de pesquisas para o isolamento e identificação de amostras de *Leptospira* de origens diversas, registrando-se na presente comunicação o isolamento de três amostras de rins de suínos normais.

MATERIAL E MÉTODOS

Meio de cultura: Meio de SCHÜFFNER, modificado por VERWOORTH, preparado exatamente como se indica em (2).

Imune-sôros: Foram usados 2 imune-sôros: *anti-ictero-hemorrhagiae* e *anti-canicola*. O primeiro foi preparado com a amostra “RR 25”, isolada de *Rattus norvegicus*, procedente de São Paulo, identificada posteriormente como *L. icterohemorrhagiae* pelo teste sorológico aglutinação-lise com a amostra “Wright”*. A Amostra “RR 25” é muito patogênica para cobaia, que morre 4 dias após a inoculação, com icterícia grave e hipotermia. Quanto ao sôro imune anti-*Leptospira canicola*, foi recebido do Prof. K. F. Meyer, da George William Hooper Foundation, San Francisco, Cal., a quem consignamos aqui os nossos agradecimentos.

Método de identificação sorológica: Foi usada a técnica proposta por SCHÜFFNER e MOCHTAR, revista por DAVIDSON (1), que consiste no teste de aglutinação-lise. Antígenos vivos ou mortos pelo formol

* Recebida do Dr. W. H. Wright, National Inst. of Health, Maryland, U. S. A.

são misturados a diluições progressivas de sôro imune; as leituras são feitas em campo escuro, após 2 a 4 horas de permanência na estufa a 37°.

Técnica de isolamento: Para o isolamento das *Leptospiras*, logo após a matança dos animais, os rins eram removidos**, transportados para o laboratório e a superfície esterilizada com uma espátula aquecida ao rubro. Fragmentos da polpa eram retirados com pipeta de PASTEUR, e semeados no meio de cultura acima referido. Este material era mantido na estufa a 30°C e examinado em campo escuro após 5 e 10 dias de incubação.

RESULTADOS

Nas presentes pesquisas, de um total de 50 rins de suínos examinados foram isoladas três amostras de *Leptospira*. Estas foram obtidas apenas de um lote de 6 animais procedentes de Rio Claro.

As amostras isoladas não se revelaram patogênicas para cobaias, nem para suínos ou camundongos.

Do ponto de vista sorológico, as três amostras isoladas, que designamos como "RP27", "RP28" e "RP29", revelaram comportamento idêntico e não reagiram nem com o sôro anti-*canicola*, nem com o sôro anti-*ictero-hemorrhagiae* ("RR 25"). O quadro abaixo demonstra esquematicamente os resultados obtidos.

SÔROS HIPERIMUNES

Designação da amostra	RP27		RP28		RP29		L. ictero-hemorrhagiae RR25		L. canicola	
	AGL	LISE	AGL	LISE	AGL	LISE	AGL	LISE	AGL	LISE
RP27	1:3000	1:3000	1:3000	1:3000	1:3000	1:3000	0	0	0	0
RP28	1:3000	1:3000	1:3000	1:3000	1:3000	1:3000	0	0	0	0
RP29	1:3000	1:3000	1:3000	1:3000	1:3000	1:3000	0	0	0	0
RR25	0	0	0	0	0	0	1:20000	1:20000	0	0
Wright	0	0	0	0	0	0	1:10000	1:10000	0	0

LISE: Antígeno vivo + sôro; 2 horas de estufa a 37°C.

AGLUTINAÇÃO: Antígeno morto + sôro; 4 horas de estufa a 37°C. Leitura em campo escuro.

Prosseguindo estas investigações, procuraremos verificar a ação patogênica das amostras de *Leptospira* isoladas de suínos, em vários animais, e sua afinidade com outras espécies isoladas por outros pesquisadores.

** Agradecemos ao Dr. R. Cury, da Secção de Epizootias do Instituto Biológico, o material de suínos que serviu para as nossas experiências.

CONCLUSÃO

Examinando 50 rins de porcos normais procedentes de várias localidades do interior do Estado de São Paulo, foram isoladas três amostras de *Leptospira*, obtidas de um lote de seis suínos procedentes de Rio Claro.

Pelos caracteres culturais, antigênicos e de patogenicidade as três amostras são idênticas, mas diferem sorologicamente da *L. canicola* e de uma amostra de *Leptospira icterohemorrhagiae*, isolada de rato cinzento (*Rattus norvegicus*).

Deixamos aqui registrados nossos agradecimentos ao Dr. V. Carneiro, que nos auxiliou na revisão do manuscrito.

ON THE PRESENCE OF LEPTOSPIRE IN SWINE IN BRAZIL

Abstract

Leptospira sp. could be cultivated from the kidneys of three out of fifty apparently normal hogs in São Paulo.

These hogs were divided into several lots of a few animals each, corresponding to different localities of the State.

All of the *Leptospira* strains were cultivated from a lot of six hogs from a farm in Rio Claro.

The cultural, antigenic and pathogenic properties of three strains proved to be identical. Furthermore, they proved to be serologically distinct either from *L. canicola* or from one strain of *Leptospira icterohemorrhagiae*, isolated from *Rattus norvegicus* in São Paulo.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — DAVIDSON, L. S. P., R. M. CAMPBELL, H. J. RAE, e J. SMITH — 1934 — In (2).
- 2 — MEYER, K. F., B. STEWARD-ANDERSON, e B. EDDIE — 1939 — Canine Leptospirosis in the United States. *J. A. M. V. Ass.*, 95:710-729.
- 3 — MOCHTAR, A. — 1940 — In *Vet. Bulletin* (1924), 12: 147.
- 4 — SAVINO, E. y E. RENNELLA — 1944 — Estudios sobre Leptospiras II. *Leptospira bonariensis* (n. sp.?) aislada en las ratas grises de la ciudad de Buenos Aires. *Revista do Instituto Bacteriológico "Dr. Carlos G. Malbran"*, 12: 182-189.
- 5 — TERSKIKH, V. I. — 1940 — Leptospirelins and Agglutinins in Hogs serum. In *Vet. Bulletin* (1942) — 12: 147-148.
- 6 — WAGENER, K. — 1942 — Transmission of Leptospiral Jaundice from the Pig to Man. *Tierärztl. Rdsch.*, 48: 121-124.

OBSERVAÇÕES SÔBRE O TEOR DE VIRUS DE BATATINHAS COLOMBIANAS.

POR

K. Silberschmidt

Do Instituto Biológico de S. Paulo

Com as estampas 10 - 13

Durante uma viagem realizada em meados do ano de 1946 à República da Colômbia — a convite do Governo daquele país — tivemos a oportunidade de percorrer diversas zonas batateiras e de efetuar observações sôbre o estado fitossanitário dos batatais colombianos. As primeiras observações, reunidas num relatório que foi encaminhado ao Diretor do Departamento Nacional de Agricultura, de Bogotá, foram mais tarde publicadas, com a autorização daquele Departamento (15, 1947).

Após a publicação do mencionado trabalho efetuamos ainda outras excursões às zonas produtoras de batatinha, completando essas observações, e estudando o comportamento de alguns tipos de batatinhas silvestres e semicultivadas, em seu ambiente natural. Dessas excursões trouxemos para S. Paulo uma coleção de tubérculos de tipos silvestres e semicultivados, assim como de variedades comerciais, que foram aqui cultivados em vasos, em estufas à prova de insetos. As plantas assim obtidas forneceram material para diversos ensaios, efetuados com o fim de identificar os tipos de virus encerrados por aquelas amostras de batatinhas colombianas.

Queremos crêr que os resultados dessas observações, resumidas no presente trabalho, poderão apresentar também certo interesse do ponto de vista do desenvolvimento da agricultura em nosso país. Isso porque, segundo os trabalhos de BUKASOV y LECHNOVITZ (2, 1935), SALAMAN (12, 13, 14, 1933, 37, 38), HAWKES (5, 6, 7, 1944, 1945) e de outros autores (1, 3, 4) as batatinhas silvestres são frequentemente dotadas de resistência contra doenças e fatores externos adversos, que faltam às nossas variedades comerciais, constituindo portanto material preciosíssimo para futuros cruzamentos com estas. Por outro lado, é também de valor para nós conhecer perfeitamente as condições externas propícias à produção de batatinha num dos países de origem dessa planta, porque isso nos proporciona a possibilidade de escolher, em nosso país, as localidades cujo clima e solo se assemelhem aos do *habitat* normal dela.

As observações que apresentaremos a seguir dividem-se em 3 partes:

Primeiramente será dada uma sucinta descrição das diversas amostras do que se compõe a nossa coleção, e das localidades em que foram colhidas.

Depois seguirão algumas indicações relativas ao comportamento das plantas pertencentes às diversas amostras em cultura nas nossas estufas e, finalmente, os resultados dos ensaios quanto ao conteúdo das batatinhas colombianas em virus.

A) Descrição das amostras de batatinhas incluídas nos nossos ensaios.

A maioria das amostras que fazem parte da nossa coleção foi colhida durante uma excursão que fizemos, entre 25 de Fevereiro e 3 de Março, a algumas zonas produtoras de batatinha do Departamento de Boyacá, a convite da Direção do Departamento de Agricultura da República de Colombia (Bogotá) e em companhia dos engenheiros agrônomos JUAN ORJUELA NAVARRETE, DANIEL MESA BERNAL e do preparador HERNANDO OSORNO MESA, todos do Instituto de Ciências Naturales, de Bogotá.

O Departamento de Boyacá, situado ao Norte de Bogotá, apresenta muitas elevações e altiplanos, a oeste da Cordilheira Oriental. Não atingido por grandes correntes de turismo ou de imigração, esse Departamento, pelo menos em alguns distritos montanhosos, ainda oferece uma ótima oportunidade para se estudar a maneira tradicional no cultivo da batatinha e para a colheita de amostras de material silvestre e semicultivado. Foi aí que HAWKES (5, 6, 1944, 1945) conseguiu reunir grande parte da preciosa coleção que está sendo cultivada e estudada na Inglaterra sob o nome de Empire Potato Collection. Existem, aliás, no Departamento de Boyacá, também grandes propriedades, nas quais a cultura de variedades comerciais está sendo praticada por métodos racionais e modernos.

Quanto à colheita do material, visamos, nessa viagem, principalmente reunir um conjunto de amostras de batatinhas silvestres e semicultivadas, entre as quais muitas não tiveram ainda adequada descrição na literatura. A título de comparação, incluímos, porém, na coleção, algumas amostras de variedades comerciais, colhidas em Boyacá e em outras partes da Colômbia.

Na seguinte descrição dessas amostras, baseada parcialmente nas indicações do relatório que pelos participantes da excursão a

Boyacá foi apresentado ao Diretor do Departamento de Agricultura de Bogotá, enumeraremos primeiramente os tipos silvestres e semicultivados e, no fim, as variedades comerciais incluídas na coleção.

I) Batatinhas silvestres ou semicultivadas.

Este grupo compreende as seguintes amostras, que estão representadas na figura A da estampa 10.

A) “Papa chava”. Coletamos em diversas localidades batatinhas às quais era atribuído o nome de “chava”. Também HAWKES (5, 1944) menciona este tipo de batatinhas silvestres de Colômbia e lamenta não ter conseguido colecionar amostras de tubérculos destas batatinhas. Esse nome é — segundo opinião dos nossos colegas colombianos — sinónimo de “isabel” e se refere à coloração, pardo-suja, dos tubérculos que às vezes se caracterizavam também por manchas difusas rosadas ou mesmo róseas. Dispomos de 5 amostras diversas de “papa chava”, todas de tubérculos pequenos, às vezes redondos, mas frequentemente de forma comprida e de base pontiaguda.

A1) Por gentileza dos agricultores da região, obtivemos uma amostra de “papa chava”, em 27/2/1947 na povoação de Monguí. Neste caso pudemos observar apenas os tubérculos colhidos, e não a planta de que provinham.

A2) (= A3 da nossa figura A, estampa 10). Adquirimos outra amostra, em condições semelhantes, em 28/2/1947, no sítio chamado “Los Corrales”, de propriedade do Sr. MANUEL RIVEROS. (3040 m acima do mar).

A3) e A4) (= A4 e A2 respectivamente da nossa figura A). Colhemos estas duas amostras de batatinhas em 28/2/1947 no município de Pueblo Viejo, nas imediações de duas casas pertencentes à mesma Fazenda “El medio de Guasca”. A primeira casa achava-se a 3200 m acima do mar, a segunda, habitada pela Sra. URIBE, num local 20 m mais alto. Nessas duas localidades pudemos observar as plantas em pleno desenvolvimento. Os pés, ainda novos na época (fins de Fevereiro) em que visitamos a localidade, estavam irregularmente distribuídos no campo, nas imediações da casa. Os agricultores afirmaram-nos que as “papas chavas” não se plantam, mas se propagam naturalmente. Concordaram os nossos informantes em admitir que às vezes os tubérculos são colhidos e utilizados na alimentação, apesar do seu gosto picante. Alguns atribuíram a essas batatinhas um efeito vertiginoso ou enjoativo. Afim de evitar tal efeito, recomendam eles descascar os tubérculos e mergulhá-los em água durante um período que pode variar entre 1 dia e vários meses (sic!). Pelo menos no caso de submersão prolongada, porém, parece tratar-se mais de um método local e tradicional de armazenagem do que dum processo de desintoxicação dos tubérculos.

A5) A última amostra, chamada “papa chava negra”, foi por nós encontrada, como as duas anteriores, em estado de plena vegetação. Obtivemos alguns tubérculos dessa origem, que se caracteriza por uma coloração um pouco mais escura da casca, em 26/2/1947, no local denominado “El Engaño” (3000 m), de propriedade do Sr. JOAQUIM LARGO, na Fazenda “Gaunza Arriba”, no município de Sotaquirá.

B) "Papa braba contenta". Em tamanho, coloração e forma, os tubérculos com esta denominação se parecem muito com as "chavas". Talvez se trate, nos dois casos, do mesmo grupo de batatinha, a que apenas, segundo a localidade, se atribuíram diversos nomes. O nome "contenta" relaciona-se, como os agricultores nos afirmaram, às poucas exigências da planta quanto a clima, solo e tratos. Encontramos as plantas desse grupo também em franca fase de vegetação, na mesma localidade e em promiscuidade com a "chava negra" descrita sob A5.

C) "Papa raizuda". Trata-se de tubérculos pequenos, arredondados, de coloração mais clara do que os das batatinhas descritas sob A) e B). É comum a todas as amostras de "papa chava", "braba contenta" e "raizuda" a formação de estolhos compridos, de maneira que em todas elas os tubérculos se formam longe do pé. Na "papa raizuda", porém, esses estolhos têm coloração cinza-amarela, ao passo que nas demais são de côr rosa-avermelhada. Nas duas localidades onde encontramos a "papa raizuda" no meio de batatinhas selvagens, ela nos foi sempre apontada pelos agricultores como planta comestível e cultivada, que não deveria ser confundida com as batatinhas silvestres (p. e. as descritas sob B e D). As diferenças morfológicas entre a rama de "papa raizuda" de um lado, e "braba contenta" e "quire", de outro, que a nós parecem bem pequenas, permitem, em todo caso, ao agricultor daquela zona, a pronta caracterização de cada planta.

Plantas de "papa raizuda" foram encontradas por nós em 26/2/947 no sítio do Snr. POLIDORO GARCIA, 3000 m acima do mar, na Fazenda "Gaunza Arriba", município de Sotoquirá, e consociadas com a "papa Quire", que descreveremos a seguir, em 3/3/947, no sítio "El Agui" (3200 m) perto da Fazenda "El Molino", no município de Siáchoque.

D) "Quire". O tubérculo desta amostra, pela forma variável, mas frequentemente alongada e piriforme, e pela coloração avermelhada, lembra bastante os espécimens já descritos sob o nome "chava" e "braba contenta". Como as demais amostras de batatinha silvestre, foi também atribuído à "papa Quire", pelos nossos informantes, entre a população local, um gosto picante e um efeito vertiginoso. Achamos por isso possível que não haja diferença sistemática entre os nossos 3 grupos de batatinhas silvestres colecionados sob 3 diferentes nomes. Para os nossos estudos quanto ao teor de vírus das batatinhas silvestres consideramos especialmente

interessante a amostra chamada “Quire”, por provir de uma localidade pouco acessível e afastada de campos de cultura das variedades comerciais.

Graças à gentileza do proprietário da Fazenda “El Molino”, Snr. MANUEL FLOREZ UMAÑA, pudemos colher abundante amostra da “papa Quire”, em 3/3/947, no sítio “El Aguí” (3200-3300 m), no município de Siachoque.

Como dissemos, além dessas amostras de batatinhas silvestres ou semicultivadas, fizeram parte da coleção que trouxemos da Colômbia também diversas amostras de variedades comerciais. Estas estão representadas na figura B da estampa 10. Na maioria essas variedades devem pertencer à espécie *Solanum andigenum* Juz. et BUK., que em muitos caracteres, como por exemplo o número dos cromossômios nas células somáticas ($2n=48$), lembra bastante a espécie *Solanum tuberosum* L., cultivada entre nós. Incluimos, porém, na coleção, também algumas amostras de batatinhas chamadas, na Colômbia, “criollas”. Estas pertencem, conforme HAWKES (7, 1945) e outros autores, possivelmente à espécie *Solanum Rybinii* Juz. et BUK., que compreende variedades precoces, cujo número de cromossômios ($2n=24$) é apenas a metade do das espécies *S. tuberosum* L. e *andigenum* Juz. et BUK.

II) Batatinhas de variedades comerciais (Estampa 10, fig. B)

a) O primeiro grupo das nossas amostras compreende tubérculos de “papas del año”, isto é, de variedades de desenvolvimento relativamente lento, cultivadas de preferência em grandes altitudes. Estas variedades, que aliás representam a maioria das cultivadas na Colômbia, são reunidas na espécie *Solanum andigenum* Juz. et BUK. E’ de supôr que pertençam a este grupo as seguintes amostras da nossa coleção, algumas das quais são mencionadas na monografia de HAWKES (5, 1944):

1) F, “L i s a r a s a-”, tubérculos comprados de agricultores em 23/2/947, em Une (Cundinamarca); batatinha de forma cheia, quase quadrangular, de olhos rasos. De acôrdo com a coloração da casca distinguimos

Fa e Fb, “Lisarasa blanca”

Fc e Fd, “Lisarasa rosada” e

Fe e Ff, “Lisarasa negra”.

2) G a-d., “M a m b e r a”, tubérculos comprados no mercado de Popayán (Cauca) em 8/2/947; batatinhas de forma alongada, de olhos rasos e de casca amarela, com manchas rosadas irregulares.

3) H a-d., “Arbolona negra”, tubérculos comprados de agricultores de Puebloviejo, comarca de Hatoviejo (3060 m, Boyacá) em 28/2/947; batatinhas de forma levemente alongada, cheias, mas ligeiramente achatadas, de olhos fundos, e de casca preta com manchas irregulares pardo-claras.

4) Ia e Ib, “Pico de Aguila”, tubérculos adquiridos dos mesmos agricultores que nos forneceram a amostra anterior; de forma alongada, um pouco pontiaguda, de olhos rasos e de casca amarela, com manchas rosadas ao redor dos olhos.

5) L “Tuquereña”, tubérculo obtido de um agricultor na Fazenda Sta. Tereza (3439 m), perto de Letras (Caldas); de forma arredondada, achatada, de olhos rasos e de cor marron-acinzentada. A variedade a que pertence esta amostra é uma das atualmente mais cultivadas na Colômbia.

6) Ma e Mb, “Caicedo”, tubérculos obtidos de plantas doentes na Estação Experimental de Oriente (perto de Medellin, Antioquia); de forma arredondada, achatada, de olhos lisos e de cor chocolate.

b) Encontram-se representadas na nossa coleção também algumas amostras de variedades chamadas “criollas” que se caracterizam por um desenvolvimento rápido e pela falta de um período de repouso fisiológico dos tubérculos. Como antes expuzemos, trata-se provavelmente de representantes de uma outra espécie, *Solanum Rybinii* Juz. et BUK. As batatinhas “criollas” podem ser cultivadas em lugares mais quentes e baixos do que as “del año”. Mencionaremos aqui a variedade:

7) K, “Criolla pepina”, tubérculos comprados em 25/2/947 no mercado de Chocontá (Cundinamarca); de forma alongada, pontiagudos, cheios e de olhos bastante superficiais.

Devemos distinguir as amostras

Ka-d, “Criolla pepina blanca”, de casca amarela (cor de fubá), mostrando escassas manchas rosadas difusas, e

Ke-g, “Criolla pepina negra”, de casca roxo-escura uniforme.

c) Figura finalmente em nossa coleção uma amostra, que obtivemos também na Colômbia, mas que é de origem boliviana e peruana. Achamos de interesse esta amostra por pertencer a uma terceira espécie de batatinhas cultivadas na vertente do Pacífico do nosso continente, isto é, *Solanum Juzepczukii* BUK., cujos representantes, quanto ao número dos cromossômios das células somáticas, ocupam uma posição intermediária ($2n=36$) entre *Solanum andigenum* Juz. et BUK. ($2n=48$) e *S. Rybinii* Juz. et BUK. ($2n=24$). Formam assim estas 3 espécies as etapas sucessivas de uma série poliplóide. Podemos descrever da seguinte maneira a amostra da nossa coleção:

8) E a-c, *Solanum Juzepczukii* Buk., tubérculos que nos foram cedidos em 20/9/947 pelo Diretor da Estação Experimental de Tábio, (Cundinamarca); de forma oval-quadrangular, com olhos bem fundos e de côr cinza, com manchas roxas ao redor dos olhos.

B) Observações durante o cultivo das plantas em estufas
a prova de insétos.

Os tubérculos, plantados em 27/3/947, em vasos de boca de 18 cm d., deram, com poucas exceções, origem a plantas fortes, que alcançaram uma altura de mais de 2 m. Nenhuma das plantas chegou a florescer, o que é digno de menção, porque muitos desses tipos de batatinha florescem e frutificam abundantemente no seu *habitat* natural. Quanto ao desenvolvimento da rama não pudemos notar nenhuma diferença característica entre as amostras de batatinhas silvestres e as de variedades comerciais, a não ser que em alguns vasos contendo “batatinha chava” os estolhos, que geralmente são subterrâneos, saíram da terra, comportando-se como “gavinhas” (Estampa 11, fig. C). As plantas foram repetidamente pulverizadas com calda bordaleza. Mesmo assim algumas exibiram, a partir de fins de Junho, fortes sintomas de requeima (causada pelo fungo *Phytophthora infestans* DE BARY), e umas poucas morreram prematuramente em consequência dessa doença. Suscetíveis a essa doença mostraram-se, entre as amostras de batatinha silvestre e semicultivada, as “papas brabas” (Bb e Bc) e “raizuda” (Ca-Cd), e entre as variedades comerciais, as chamadas “Arbolona negra” (Ha-Hd) e “Pico de Aguila” (Ia e Ib). Também as plantas de *Solanum Juzepczukii* não resistiram muito tempo a essa doença. Algumas das batatinhas nativas, entre as chamadas “Chava” — por exemplo as amostras A1e, A2d, A4b — e “Quire” (p. e. Dc, Dg, Dh, Dj, Dk, DII) apresentaram-se bastante resistentes e conservaram as fôlhas verdes ainda depois de 26/6/947. Entre as variedades comerciais verificamos comportamento semelhante nas chamadas “Mambera” (Ga e Gd) e “Criolla Pepina” (Kb e Kc). Os tipos restantes apresentavam um grau intermediário de resistência à requeima. Começamos em 10/7 a colheita dos tubérculos, determinando para cada planta o número e o peso dos tubérculos produzidos. Aproveitamos a ocasião da colheita para efetuar algumas observações quanto à localização dos tubérculos recémformados nas diversas amostras.

Verificamos — o que já tínhamos observado no *habitat* natural das batatinhas nativas — que os tubérculos se desenvolvem na ex-

tremidade de estolhos compridos, de maneira que, tendo cultivado essas plantas em vasos, os tubérculos achavam-se muitas vêzes na proximidade do bordo deles.

Para caraterizar melhor as diferenças existentes entre as várias amostras experimentadas, indicaremos a seguir, para algumas das nossas plantas, a distância entre o colo da planta-mãe e o lugar da formação dos novos tubérculos.

TABELA 1

Indicações comparativas quanto ao lugar da formação dos novos tubérculos

Origem	N.º de tubérculos produzidos	Distância dos tubérculos do colo da planta-mãe
Chava blanca Ale	11	todos presos na base
Chava blanca A2a	4 (+ 5 pequenos)	10, 7, 5, 4 cm
Chava blanca A3b	4	16, 14, 11, 6 cm
Chava blanca A3d	4 (+ 3 pequenos)	14, 7, 6, 4 cm
Raizuda Ce	9 (+18 pequenos)	10, 9, 8, 8, 8, 7, 6, 6, 5 cm
Quire Dh	14	8, 7, 7, 6, 6, 6, 6, 6, 6, 5, 4, 3, 2 cm
Quire Di	9	11, 9, 8, 7, 6, 5, 5, 4, 3 cm
S. Juzepczukii, Eb	5	3, 2, 1, ½, ½ cm
Lisarasa rosada Fc	9 (+ 6 pequenos)	3, 3, 2, 2, 2, 2, 2, 1, ½ cm
Pico de Aguila Ia	4	2, 1½, 1, 1 cm
Arbolona negra Hd	9 (+ 4 pequenos)	6, 5, 4, 3, 3, 2, 1½, 1, ½ cm
Criolla pepina blanca Kb	4	6, 3, 2½, 1 cm

Dos dados desta tabela pode-se inferir que nas plantas dos grupos “Chava”, “Raizuda” e “Quire”, a maioria dos novos tubérculos se formou longe do colo da planta. Apenas a amostra “Chava blanca” Ale constitue uma exceção bem distinta dessa regra, porque nela os tubérculos apresentaram-se junto ao colo (Estampa 11, fig. D). Levando em consideração, ainda, que também na forma e coloração os tubérculos desta amostra se distinguiram muito dos das “Chavas” de outra origem, queremos crêr que não convem incluí-la entre as batatinhas do tipo “Chava”.

Se assim fôr, o critério por nós adotado permite caraterizar uma das nossas amostras de “Chava” como bastante afastada dos demais tipos aos quais se atribue êsse nome; o mesmo critério dá-nos a possibilidade de verificar certa analogia entre as amostras “Chava”, “Raizuda” e “Quire”.

Provavelmente também o comportamento da amostra “braba contenta” (Ba-c) não difere essencialmente, a êsse respeito, das outras origens silvestres. A produção de tubérculos nessa amostra foi porém tão reduzida, que não pudemos realizar observações conclusivas a seu respeito.

Quanto às variedades de batatinha cultivadas, há entre elas grandes diferenças quanto ao tamanho dos estolhos, que terminam em tubérculos. Nas variedades que escolhemos para comparar com os tipos silvestres, a maioria dos tubérculos se formou na proximidade da base do talo. Também as plantas de *S. Juzepczukii* não produziram estolhos compridos.

Tomamos, até agora, como base de comparação das nossas diversas amostras de batatinhas, exclusivamente a maneira por que nelas se localizam os tubérculos recémformados. Sob êste critério, as batatinhas silvestres e semicultivadas — pelo menos as poucas amostras colecionadas — parecem facilmente distinguíveis das variedades comerciais.

Efetuamos também observações a respeito de outras qualidades das nossas amostras. Mas, já que a finalidade principal dos nossos estudos consistiu na verificação e, eventualmente, na identificação dos virus encerrados pelas batatinhas da nossa coleção, passaremos a considerar estas outras qualidades apenas no que se relaciona com a contaminação das amostras por virus. Algumas observações acerca da presença ou ausência de sintomas de doenças de virus nas nossas plantas, assim como os dados relativos à produção de tubérculos nestas plantas, acham-se condensados na tabela 2.

C) Ensaios para a identificação dos tipos de virus encerrados pelas batatinhas colombianas.

Baseando-nos em algumas indicações da literatura, supusemos que as amostras de batatinhas silvestres e principalmente as provenientes de grandes altitudes iriam revelar-se isentas ou pelo menos apenas levemente contaminadas de virus. Essa suposição, porém, não foi confirmada pelas nossas observações. Como se pode vêr das indicações da tabela 2, quase tôdas as plantas que pertencem às amostras "Chava", apresentaram nítidos sintomas de doenças de virus. Queremos excluir neste particular a amostra Ale, que não exibiu sintomas dessa natureza, e que, por essa e outras razões já expostas, merece, a nosso vêr, ser incluída em outro grupo sistemático. Também notámos um ligeiro mosaico numa planta da amostra "Braba contenta" (Bc) e em algumas plantas da amostra "Quire" (Db, Dg, Dj), ao passo que as plantas restantes desses grupos, assim como todos os pés da amostra "Raizuda", deixaram de apresentar sintomas de doenças de virus.

TABELA 2
Estado de sanidade e produção das batatinhas colombianas.

Número	variedade	aspeto	teor em virus	N.º de tu- bérculos co- lhidos	peso dos tu- bérculos co- lhidos em gramas
A1e	Chava blanca Monguí	sadio	—	11	65
A2a	Chava blanca Correales	mosaico	+	9	64
A2b	Chava blanca Correales	mosaico e "streak"	+	3	1
A2c	Chava blanca Correales	requeima mosaico	+	0	0
A2d	Chava blanca Correales	mosaico		10	25
A3a	Chava blanca (Pueblo viejo)	mosaico	+	10	10
A3b	Chava blanca (Pueblo viejo)	lig. at. requeima "veinbanding"	+	4	20
A3c	Chava blanca (Pueblo viejo)	lig. at. requeima lig. mosaico	—	8	20
A3d	Chava blanca (Pueblo viejo)	lig. mosaico	+	7	25
A4a	Chava blanca (El medio de Gu- asca)	lig. mosaico	+	3	3
A4b	Chava blanca (El medio de Gu- asca)	lig. at. requeima		7	3
A4c	Chava blanca (El medio de Gu- asca)	lig. mosaico	+	6	20
A4d	Chava blanca (El medio de Gu- asca)	sadio	—	15	72
A5	Chava negra	sadio		23	92
Ba	Braba contenta	não germinou			
Bb	Braba contenta	requeima sadio		1	0,2
Bc	Braba contenta	requeima lig. mosaico	—	1	0,5
Ca	Raizuda	requeima sadio		12	5

(continua)

(Continuação)

Cb	Raizuda	requeima sadio	—	17	10
Cc	Raizuda	requeima sadio		3	0,5
Cd	Raizuda	requeima sadio		2	2
Ce	Raizuda	requeima sadio	—	27	30
Da	Quire	requeima sadio	+	7	15
Db	Quire	requeima lig. mosaico		1	1
Dc	Quire	sadio		13	95
Dd	Quire	requeima sadio	+	0	0
De	Quire	sadio		9	25
Dg	Quire	lig. mosaico		2	5
Dh	Quire	sadio		14	55
Di	Quire	requeima sadio		9	55
Dj	Quire	lig. mosaico		10	20
Dk	Quire	sadio		12	45
Dl	Quire	requeima sadio		8	40
D2	Quire	lig. mosaico	+	8	35
Fa	Lisarasa blanca	mosaico, encrespa- mento		16	70
Fb	Lisarasa blanca	requeima mosaico, encrespa- mento	+	9	5
Fc	Lisarasa rosada	mosaico, encrespa- mento		15	60
Fd	Lisarasa rosada	mosaico, lig. en- crespamento	—	9	40
Fe	Lisarasa negra	sadio		15	75
Ff	Lisarasa negra	sadio		14	74
Ga	Mambera	sadio		5	85

(continua)

(Continuação)

Gb	Mambera	requeima sadio		7	80
Gc	Mambera	sadio		2	65
Gd	Mambera	sadio	—	3	95
Ha	Arbolona negra	requeima sadio		16	25
Hb	Arbolona negra	requeima sadio	—	6	5
Hc	Arbolona negra	requeima sadio		19	25
Hd	Arbolona negra	requeima fraca sadio	—	13	5
Ia	Pico de Aguila	requeima sadio		4	5
Ib	Pico de Aguila	requeima mosaico	±	5	15
Ka	Criolla pepina blanca	sadio	+	2	35
Kb	Criolla pepina blanca	sadio	—	4	45
Kc	Criolla pepina blanca	sadio	—	7	70
Kd	Criolla pepina blanca	sadio	—	1	15
Ke	Criolla pepina negra	requeima sadio		7	45
Kf	Criolla pepina negra	sadio	—	2	55
Kg	Criolla pepina negra	sadio	—	3	65
L	Tuquereña	sadia		7	35
Ma	Caicedo	requeima fraca lig. mosaico	+	0	0
Mb	Caicedo			1	5
Ea	S. Juzepczukii Buk.	requeima mosaico, encrespa- mento		11	45
Eb	S. Juzepczukii Buk.	requeima mosaico, encrespa- mento		5	55
Ec	S. Juzepczukii Buk.	requeima mosaico, encrespa- mento	+	1	25

Passando agora a considerar as amostras de variedades comerciais de batatinha, observamos fôlhas mosaicadas nas plantas das amostras “Lisarasa blanca” e “Lisarasa rosada”. Com forte encrespamento e mosaico apresentaram-se também as fôlhas das 3 plantas de *Solanum Juzepczukii*. As fôlhas das amostras restantes, especialmente as das amostras “criollas”, não exibiram sintomas de doenças de vírus.

Como já explicamos em vários trabalhos anteriores, a mera observação do aspéto de um pé de batatinha não é suficiente para se assegurar a ocorrência ou não de uma doença de vírus nessa planta e ainda menos para identificar os vírus causadores dessas eventuais doenças. Para isso é necessário reproduzir as doenças observadas em plantas de espécies indicadoras, por meio de inoculações experimentais. No nosso caso, tratando-se com grande probabilidade de doenças mecanicamente transmissíveis, executamos as inoculações com o suco das plantas suspeitas.

A primeira série de inoculações foi executada em 22/4/947, usando-se *Nicotiana Tabacum* L. var. White Burley e *N. glutinosa* L. como espécies indicadoras. As plantas, cujos sucos provocaram nesta série ou em séries complementares, efetuadas com a descendência destes tubérculos, sintomas nos pés inoculados, estão marcados na tabela 2 com +, ao passo que as plantas cujos sucos não se mostraram infeciosos, distinguem-se pelo sinal —.

Em muitos pontos os resultados deste ensaio de inoculação confirmaram as conclusões baseadas nas observações de sintomas em batatinha. Principalmente verificou-se que a maioria das batatinhas do grupo “Chava”, constante da nossa coleção, de fato encerra vírus. Outros resultados positivos de inoculação foram obtidos com sucos de algumas plantas de “Quire” e de uma fonte, respectivamente, das variedades “Lisarasa blanca”, “Caicedo”, “Criolla pepina blanca” e de *Solanum Juzepczukii*.

Quanto aos sintomas apresentados pelas plantas indicadoras, êsses consistiram, em *Nicotiana glutinosa*, num ligeiro encrespamento das fôlhas, que além disso apresentavam faixas de verde escuro acompanhando as nervuras (— “veinbanding” da literatura americana e inglesa —) e em *Nicotiana Tabacum* “White Burley”, em clorose e mosqueado leve, manifestando-se em forma de placas circulares cloróticas (Estampa 12, Fig. E) e finalmente também em “veinbanding”. Duas das nossas fontes, isto é, *Solanum Juzepczukii* Ec e “Lisarasa blanca” Fb, produziram, além dos sintomas já des-

critos, em *N. glutinosa* encrespamento “rugoso” das folhas, e em fumo, anéis e placas brancas necróticas.

Trataremos, em primeiro lugar, das nossas tentativas de identificar o vírus responsável por êsses sintomas mais severos. Ensaio de inoculação em que usamos sucos contendo o vírus encerrado pelas batatinhas Ec e Fb, foram realizadas em 12/5, 5/6 e 24/6/947. Incluímos entre as plantas a serem inoculadas, nestes ensaios, representantes da espécie *Datura Stramonium* L, vulgarmente chamada “Figueira do Inferno”. Esta espécie é largamente usada em estudos de vírus das batatinhas, por servir de “hospedeira diferencial”. Queremos dizer, com isso, que a espécie é resistente a um grupo de vírus, frequente em batatinha e transmissível por suco, isto é, aos vírus do grupo Y, mas suscetível aos vírus de um outro grupo, do chamado grupo X. Pois bem, os sucos contendo o vírus encerrado tanto pela amostra de batatinha Ec (*S. Juzepczukii*) como também Fb (*Lisarasa blanca*) provocaram fortes sintomas de “veinbanding” nas plantas de *Datura Stramonium*. Podemos assim concluir que pelo menos um componente do agente infeccioso contido nas amostras Ec e Fb consiste no vírus X da batatinha.

Levando em consideração os sintomas necróticos muito severos, que os sucos dessas mesmas amostras provocaram em *N. glutinosa* e *N. Tabacum* “White Burley”, admitimos que elas contenham ainda um outro vírus, provavelmente pertencente ao grupo Y. Isso não se refere à amostra K a de batatinha Criolla pepina blanca, que contém apenas uma variante muito fraca do vírus X da batatinha.

Passaremos agora a expôr os resultados das nossas tentativas de chegar a uma identificação do vírus encerrado pelas amostras de batatinha, cujos sucos provocaram apenas sintomas cloróticos em plantas de fumo, var. White Burley, e em *Nicotiana glutinosa*. Foram efetuados ensaios de inoculação com o vírus em questão em 12/5, 29/5, 24/6, 7/7, 27/7, 2/8, 11/9 e 29/10. Como primeiro resultado desses ensaios deve ser destacado o fato de que tôdas as nossas amostras de vírus — com exceção das duas já mencionadas, pertencentes ao grupo X — mostraram comportamento igual, ou pelo menos muito semelhante. Esta grande semelhança entre as nossas amostras de vírus evidenciou-se, por exemplo, no seu comportamento em relação à *Datura Stramonium*. Nenhuma das amostras, pois — sempre abstração feita dos dois casos antes mencionados — produziu sintomas nessa espécie indicadora (Exp. de 29/5 e 2/8).

Na série de ensaios de 12/5 tentamos determinar o “ponto terminal de inativação” dos virus. Obtivemos nesta série, trabalhando principalmente com as amostras de virus encerradas pelas batatinhas “Chava” A2a e A2c, ainda com sucos, aquecidos durante 10' a 55°, resultados positivos de infecção experimental. Sucos submetidos durante o mesmo prazo a 59° não mais provocaram infecções. Estes resultados estariam perfeitamente de acôrdo com a hipótese de que o virus encerrado por grande parte das amostras de batatinhas colombianas da nossa coleção pertença aos do grupo Y de batatinha. Apesar de termos levantado esta hipótese desde os primeiros ensaios, achamos necessário prosseguir, empregando métodos variados, nas nossas tentativas de identificação do virus, porque os sintomas por êle provocados nas plantas inoculadas de *Nicotiana Tabacum*, var. “White Burley”, não correspondiam inteiramente aos produzidos pelas variantes desse virus já por nós estudadas. É verdade que o primeiro sintoma das plantas de fumo inoculadas com o nosso virus consistiu num esclarecimento das nervuras, e que o mesmo sintoma também é causado por tôdas as nossas variantes do virus Y. Por outro lado estas provocam geralmente, como sintoma secundário, uma clorose das partes do limbo situadas entre as nervuras, salvo estreitas faixas ao longe dessas nervuras, que apresentam coloração verde-escura. Este sintoma torna-se bem visível especialmente nas fôlhas que já se aproximam do estado da maturação. Nestas, as faixas escuras, que acompanham as nervuras (o “vein-banding” da literatura anglo-americana), não se observam, geralmente, em tôda a extensão do limbo, mas são limitadas a alguns trechos das nervuras terciárias, localizadas de preferência na vizinhança do bordo do limbo. Não faltava contudo inteiramente êsse sintoma nas plantas inoculadas com o nosso virus. Apresentava-se, porém, de maneira menos severa e mais generalizada, interessando a totalidade das nervuras de uma fôlha. Predominava, por outro lado, nas plantas de fumo inoculadas com o nosso virus, um outro sintoma, que consistia num grande número de placas anulares cloróticas, principalmente na parte apical das fôlhas (Estampa 12, fig. E). Essas placas lembram muito os sintomas representados por KOEHLER (8, 1936) em fig. 31 do seu trabalho, e por êle atribuídos aos efeitos tardios do virus Y em fôlhas de fumo. No nosso caso, porém, tratava-se de um sintoma muito comum, secundário é verdade, mas que não podia ser considerado tardio. Para obter, por

isso maior certeza a respeito da natureza do nosso vírus, efetuamos ainda mais algumas séries de inoculações. Uma destas, em que fizemos uso do método de “inoculação protetiva” e que foi executada em 24/7/47, será descrita aqui mais detalhadamente.

Desde os estudos de THUNG (16, 1931), SALAMAN (12, 1933), KUNKEL (9, 1934) e outros, sabemos que plantas inoculadas com a variante de um vírus mostram-se total ou parcialmente resistentes à superinoculação com a mesma ou com outras variantes desse mesmo vírus. Continuam porém essas plantas suscetíveis a infecção por outros vírus. Nestas observações foi baseada uma técnica, empregada já por vários autores, para identificar um vírus desconhecido. Divide-se um lote de plantas inoculadas com o vírus a ser determinado, em vários grupos. As plantas de cada grupo recebem a superinoculação com um de uma série de vírus já conhecidos, dos quais se supõe que um poderia ser idêntico ao vírus em experimentação. No caso em que o vírus da inoculação e o da superinoculação são realmente variantes do mesmo vírus, os sintomas provocados pela inoculação não sofrem grandes modificações após a superinoculação. Se, porém, os dois vírus são diferentes, cada um deles provoca sintomas característicos ou, como acontece com as chamadas doenças complexas, o segundo vírus tende a agravar os sintomas do primeiro.

No caso de nossa experiência, foram inoculadas, em 24/7/47, seis plantas de cada uma das variedades “White Burley” e “Sam-sun” de *Nicotina Tabacum* com uma das fontes “Chava” A2a (duas repetições), “Chava” A2c e “Chava” A3b.

Duas das plantas de cada série foram superinoculadas, 8 dias mais tarde, por fricção, com suco contendo vírus X; duas outras plantas, da mesma forma, com suco contendo vírus Y da batatinha. As duas plantas restantes de cada grupo ficaram sem nenhuma superinoculação. Resumiremos aqui, primeiramente, os resultados que obtivemos com a amostra “Chava” A3b. (Estampa 12, fig. F, fila superior). Nesta série as plantas, que só tinham recebido este último inóculo, não exibiam sintoma algum. Os pés “superinoculados” com o vírus X apresentavam, nas folhas inoculadas, anéis brancos necróticos, e nas demais folhas, sintomas anulares, cloróticos, e os friccionados com suco contendo vírus Y mostravam os sintomas de “veinbanding” geralmente ocasionados por ele. Todas as plantas superinoculadas sofreram, em comparação com as companheiras, uma inibição, embora leve, no crescimento. Estes resultados são facilmente compreensíveis se admitirmos que o suco

obtido da amostra "Chava" A3b estava realmente isento de vírus. Neste caso, pois, tanto o vírus X como o vírus Y foram inoculados em plantas perfeitamente sadias, ocasionando nelas os respectivos sintomas típicos.

Bem diferente foi, porém, o resultado obtido com as amostras "Chava" A2a — estudada em duas repetições — (Estampa 12, fig. F, fila inferior) e A2c. As plantas de fumo inoculadas exclusivamente com uma destas amostras exibiram nas folhas médias as placas cloróticas anulares, já antes mencionadas (pg. 303) e um "veinbanding" generalizado, mas pouco intenso, nas folhas novas. Os pés primeiramente inoculados com uma dessas amostras e depois superinoculados com o vírus X, apresentavam pontos, linhas, placas circulares cheias e manchas irregulares necróticas nas folhas inoculadas e novas, e um fortíssimo impedimento do crescimento, que chegou em alguns casos a provocar um verdadeiro nanismo das plantas. Todos os sintomas descritos são típicos de doenças "complexas", causadas por uma combinação de diversos vírus. As plantas primeiramente inoculadas com a amostra A2a ou A2c e superinoculadas com o vírus Y não exibiam tais sintomas complexos. Elas só se caracterizavam pelas placas cloróticas anulares (— ocasionadas pelo suco de "Chava" —) e um "veinbanding" mais acentuado do que nas testemunhas que não receberam uma superinoculação. Deste resultado pode-se concluir que as amostras "Chava" A2a e A2c encerravam, com toda a probabilidade, um vírus do grupo Y. Este vírus provocou, em combinação com o vírus X das batatinhas, sintomas complexos necróticos, sem ocasionar uma semelhante doença complexa quando em combinação com a nossa variante do vírus Y. Até este ponto, todas as nossas observações estão de perfeito acordo com a nossa suposição de que o vírus a ser identificado, e contido nas amostras de batatinha "Chava" A2a e A2c, não seja outro senão uma variante do vírus Y. O único fato que nos fez inicialmente hesitar foi o desenvolvimento forte e acentuado de sintomas de "veinbanding" nas plantas inoculadas com uma das amostras de "Chava" A2a e A2c e superinoculadas com o vírus Y. Este aparecimento de sintomas complementares não corresponde, com efeito, inteiramente à teoria da inoculação protetiva. Não devemos esquecer, porém, que esta proteção nem sempre é total, mas muitas vezes apenas parcial, conforme já foi notado repetidamente por autores que trabalharam com variantes do vírus Y (veja NOBREGA e SILBERSCHMIDT, 11, 1944, 320-321).

Em todo caso, com o intuito de obter mais dados a respeito dos caracteres do vírus encerrado pelas amostras “Chava” A2a e “Chava” A2b de batatinhas colombianas, executamos ainda algumas outras experiências.

Numa destas, que foi realizada em 7/7/947 com a amostra “Chava” A2a, estudamos a possibilidade da transmissão do vírus por ela encerrado a plantas sadias de fumo da variedade “Samsun” por meio do afídeo *Myzus persicae* SULZ. Sessenta afídeos dessa espécie, depois de terem ficado 3 horas em jejum, foram colocados sobre folhas destacadas de plantas sadias de fumo, e outros 60 sobre folhas comparáveis de pés de fumo experimentalmente infeccionados com o vírus encerrado pela amostra “Chava” A2a de batatinha. Os afídeos ficaram duas horas sobre as folhas destacadas e foram depois distribuídos sobre plantas sadias de fumo “Samsun”. Com os afídeos que se tinham alimentado sobre folhas sadias, foram povoadas 3 plantas, e outras tantas com os afídeos que tinham sugado as folhas que encerravam o vírus da batatinha “Chava” A2a. As plantas povoadas com os afídeos não virulíferos ficaram sadias, ao passo que uma das plantas que receberam afídeos virulíferos começou, após poucas semanas, a exibir as placas cloróticas nas folhas velhas e o “veinbanding” sistêmico, mas difuso, que já tínhamos provocado várias vezes por meio de inoculações mecânica de plantas de fumo com a mesma amostra de vírus. Já que o vírus Y da batatinha — ao contrário do vírus X — é transmissível por *Myzus persicae*, este resultado confirma a nossa suposição de que o vírus encerrado pela amostra “Chava” A2a de batatinha colombiana seja uma variante do vírus Y.

Depois de chegados a este resultado por meio de ensaios em que foram empregados os métodos da inoculação protetiva e da transmissão por insetos, quizemos mais uma vez e com um número mais elevado de plantas a serem inoculadas, verificar o “ponto termal de inativação” do vírus em questão.

Com esse fim executamos duas séries de experiências, respectivamente em 11/9 e 29/10/947. Na primeira dividimos o suco de fumo contendo o vírus da amostra “Chava” A2a de batatinha colombiana em 5 porções, a primeira das quais ficou sem tratamento, ao passo que as restantes foram submetidas, respectivamente, durante 10 minutos, à temperatura de 40°, 45°, 55° e 60°C. Com cada uma destas porções 4 plantas de fumo da variedade “White Burley” e 4 plantas de *Nicotiana glutinosa* foram inoculadas. Nenhuma das

plantas, cuja fôlhas tinham sido friccionadas com a amostra de suco submetida à 60° adoeceu; o suco submetido à 55° infeccionou uma planta de fumo; o submetido a 45° provocou a doença em uma planta de *N. glutinosa* e nas 4 plantas de fumo; ainda a porção tratada com 40° provocou a doença em 1 planta de *N. glutinosa* e nas 4 de fumo, e o suco normal revelou-se infeccioso para as quatro plantas de *N. Tabacum* assim como para as quatro de *N. glutinosa*. (Estampa 13). As 10 plantas que serviram de testemunha não chegaram a exhibir o menor traço da doença.

A segunda série de experiênicas foi executada de maneira semelhante, com a única diferença de ser o suco contendo o virus desta vez dividido em oito porções, uma das quais (suco normal) ficou à temperatura ambiente, ao passo que as demais foram submetidas a temperaturas, respetivamente, de 30°, 35°, 40°, 45°, 50°, 55° e 60°.

Também neste ensaio a porção do suco, que tinha sido tratada com a temperatura de 60°, caracterizou-se pela perda de infetividade. Das plantas inoculadas com a amostra submetida a 55° só dois pés de fumo contrairam a doença. As demais porções do suco mostraram-se sempre infecciosas para algumas das plantas inoculadas de *N. glutinosa* e para todas de *N. Tabacum* var. "White Burley". O ponto termal de inativação do virus em questão deve, pois, estar situado entre as temperaturas de 55° e 60°. Este resultado não está sómente em perfeito acôrdo com os dados que as nossas experiências anteriores tinham fornecido, mas torna mais segura ainda a nossa suposição de que o virus encerrado pela amostra "Chava blanca" A2a de batatinha colombiana — e que é provavelmente idêntico ao virus por nós encontrado em outras amostras da nossa coleção — seja uma variante do virus Y da batatinha. Não parece, em todo o caso, que o nosso virus possa enquadrar-se no grupo do virus A, que é, em muitas qualidades, semelhante ao virus Y, já que como ponto termal de inativação do virus A é considerada — conforme WEISS, (17, 1945, pág. 94) — uma temperatura mais baixa (cerca de 45°).

Podemos, portanto, terminar esta parte dos nossos estudos, concluindo que algumas amostras de batatinhas silvestres ou semicultivadas, por nós examinadas, e poucas variedades comerciais encerravam uma variante do virus Y, ao passo que uma variedade comercial, igualmente proveniente da Colômbia e *Solanum Juzepczukii* continham, além disso, o virus X da batatinha. Numa varie-

dade comercial de batatinha foi encontrada apenas uma variante fraca do vírus X. Numerosas outras variedades comerciais de batatinha colombiana apresentavam-se sem contaminações por vírus.

DISCUSSÃO

Verificaremos agora até que ponto os resultados por nós obtidos concordam com as indicações que encontramos na literatura. Neste particular queremos destacar principalmente o fato de que não verificamos uma contaminação generalizada por vírus nas nossas amostras de “papa criolla”, pertencentes possivelmente à espécie *Solanum Rybinii*. BUKASOV (citado segundo HAWKES, 7, 1945, p. 24) considerou *S. Rybinii* resistente à degenerescência da batatinha. Além disso, COCKERHAM (3, 1943, pág. 107) admite a possibilidade de existirem fatores positivos para resistência em certos clones de *Solanum Rybinii* e de *S. andigenum*. Em todo caso a ausência ou a ocorrência apenas esporádica de vírus nas amostras por nós estudadas de “papa criolla” e também em várias amostras de “papa del año” não deve surpreender, dadas as referências de outros autores.

Quanto às nossas observações relativas ao teor de vírus de algumas das nossas amostras de batatinha silvestre ou semicultivada (— principalmente as amostras “Chava” e “Quire” —) é difícil confrontá-las com indicações da literatura, por não conhecermos ainda a exata classificação destas amostras. Se admitirmos, o que nos parece provável, que as amostras pertencem à espécie *Solanum andigenum*, as nossas observações se enquadram bem nas referências da literatura.

NOBREGA e SILBERSCHMIDT (10, 1941) numa tentativa de identificar os vírus encerrados por uma coleção de batatinhas peruanas — provavelmente também pertencentes à espécie *S. andigenum* — verificaram que 3 amostras encerravam um vírus relacionado com o vírus X e uma amostra um agente infeccioso que mais tarde pelos mesmos autores (11, 1944), foi identificada como variante do vírus Y. Para completar ainda a analogia entre as observações relativas a batatinhas peruanas e os resultados agora por nós obtidos queremos mencionar que as plantas de fumo inoculadas primeiramente com o vírus Y e superinoculadas com a variante deste vírus encontrada em batatinhas peruanas, exibiram, além dos sintomas cau-

sados normalmente pelo vírus Y, também sintomas complementares, caraterísticos da doença causada pela variante.

Também COCKERHAM (4, 1944, pág. 10) encontrou nas variedades de batatinha provenientes da América do Sul pelo menos dois vírus, os quais suspeitou que fossem de natureza desconhecida. Um desses “novos” vírus parecia ter grande afinidade com o vírus Y, ao passo que o outro foi considerado parecido ou invariavelmente associado ao vírus X.

Referindo-nos ainda à doença observada na nossa amostra de *Solanum Juzepczukii*, devemos frizar que ela se manifestou em forma de mosaico, encrespamento e ondulamento generalizado das folhas. Quizemos acentuar isso porque G. COCKERHAM verificou, pelo menos num clone de *S. Juzepczukii*, a existência de uma reação necrótica ao vírus X.

Finalmente passaremos a considerar ainda algumas relações, de carater mais geral, existentes entre a altitude do lugar em que as amostras foram colhidas e a contaminação dos tubérculos por vírus.

As amostras, chamadas “Quire”, de batatinhas silvestres ou semicultivadas, que se mostraram parcialmente contaminadas por vírus, provieram de uma altitude de mais de que 3200 m e de um lugar pouco acessível e bem afastado de plantações comerciais de batatinha. Por outro lado as batatinhas “criollas”, e mesmo algumas variedades de “papa del año”, que se apresentavam sem infecção por vírus, provieram de localidades de menor altitude e onde abundam mais as plantações comerciais de batatinha. Basta dizer que algumas destas amostras de variedades, achadas livres de vírus, foram adquiridas nas feiras, mantidas em logradouros públicos. Estas observações mostram que as relações entre altitude e contaminação são de natureza bem complexa, e que as grandes altitudes, embora sejam pouco favoráveis a uma rápida disseminação das doenças de vírus, não podem ser consideradas “sanatórios” para batatinhas.

OBSERVATIONS ON THE VIRUS CONTENT OF COLOMBIAN POTATOES

A b s t r a c t

1) *On his trip to Colombia, S. A. the author collected 3 groups of samples of potato-tubers originating principally from the district*

called Boyacá. To the first group (plate 10, fig. A) belong tubers of weed or semicultivated forms collected from sites localized at 3000 m and more above the sea level. The second group (plate 10, fig. B) includes tubers of commercial varieties of the very common late maturing crop type, called "papa del año" in Colombia, and which probably pertain to the species *Solanum andigenum* Juz. et BUK. The third group (plate 10, fig. B) comprises commercial varieties of a type called "criolla" in Colombia, probably belonging to the species *Solanum Rybinii* Juz. et BUK. cultivated at lower altitudes and characterized by a short dormancy.

2) From those tubers brought to São Paulo, Brazil, plants were grown in our insect-proof greenhouses. Some samples of the first group were characterized by the occurrence of "stolons" outside the soil of the flowerpots, in which the plants grew (plate 11, fig. C) and by the great length of the tuber-bearing "stolons" (plate 11, fig. D). In those varieties the new tubers are formed comparatively far from the shoot. Some observations on this quality are condensed in table 1. Figures on the tuber-production are given in table 2.

3) Experiments on the virus content of those samples showed, that many of the varieties, principally of the first group, harbor an infectious agent (table 2), belonging to the group of potato-Y-virus. The symptoms produced by the sap of almost all the virus-containing varieties of our collection on plants of *Nicotiana Tabacum* L. var. "White Burley" were alike and consisted in small, round, chlorotic blotches on the medium sized leaves (plate 12, fig. E). Tobacco plants, infected with this virus and superinoculated with potato virus X, displayed a severe necrotic disease (plate 12, fig. F, bottom row, first two plants at the right). In plants of *Nicotiana glutinosa* L. the virus harbored in some of the Colombian potato samples produced stunting and leaf-crinkle (plate 13). Complementary to this virus we found potato-X-virus in one of the commercial varieties of the second group and in *Solanum Juzepczukii* BUK. which occurs spontaneously in Bolivia and Perú, but from which we brought a sample grown in an Experimental Station in Colombia.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — ANÔNIMO — 1936 — The South American Potatoes and their Breeding Value. Imperial Bureau of Plant Genetics 633. 491, 15 pg.

- 2 — BUKASOV, S. M. y V. LECHNOVITZ — 1935 — Importancia en la fitotécnica de las papas indígenas de la América del sur. *Rev. Argentina Agronom.*, 2: 173-183.
 - 3 — COCKERHAM, G. — 1943 — Potato breeding for virus resistance, em: Discussion on potato virus diseases. *Ann. app. Biol.*, 30: 105-108.
 - 4 — COCKERHAM, G. — 1944 — Virus diseases, em Scottish Society for Research in Plant-Breeding. *Report 1944*, 10-11.
 - 5 — HAWKES, J. G. — 1944 — Potato Collecting Expeditions in Mexico and South America. II. Systematic Classification of the Collections. *Imperial Bureau of Plant Breeding and Genetics*, 142 pg., Cambridge.
 - 6 — HAWKES, J. G. — 1945 — The Story of the Potato. *Discovery*, 38-46.
 - 7 — HAWKES, J. G. — 1945 — The Indigenous American Potatoes and their Value in Plant-Breeding. *The Empire Journal of Experimental Agriculture*, 13: 11-40.
 - 8 — KOEHLER, E. — 1936 — Der Virusnachweis an Kartoffeln. *Mitt. d. Biol. Reichsanstalt f. Land-und Forstwirtschaft*, Heft 53.
 - 9 — KUNKEL, L. O. — 1934 — Studies on acquired immunity with tobacco and aucuba mosaics. *Phytopath.*, 24: 437-466.
 - 10 — NOBREGA, N. R. e K. SILBERSCHMIDT — 1941 — Estudo sôbre o estado sanitário de algumas variedades de batatinhas peruanas. *O Biológico*, São Paulo, 7: 243-248.
 - 11 — NOBREGA, N. R. e K. SILBERSCHMIDT — 1944 — Sôbre uma provável variante do vírus "Y" da batatinha (*Solanum virus 2*, Orton) que tem a peculiaridade de provocar necroses em plantas de fumo. *Arq. do Inst. Biol.*, São Paulo, 15: 307-330.
 - 12 — SALAMAN, R. N. — 1933 — Protective inoculation against a plant virus. *Nature*, 131: 468.
 - 13 — SALAMAN, R. N. — 1937 — Potato variety production: a new departure. *The Gardners Chronicle*, 102: 326-327.
 - 14 — SALAMAN, R. N. — 1938 — The present state and future development of potato breeding. *Indian J. Agric. Sci.*, 8: 119-129.
 - 15 — SILBERSCHMIDT, K. — 1947 — Enfermedades de virus de la papa en Colombia. *Agricultura Tropical*, 3: 27-35.
 - 16 — THUNG, T. H. — 1931 — Smetstof en plantencel bij enkele virusziekten van de tabaksplant. *Hand. VI. Ned. Ind. Natuurw. Congres*, 450-463.
 - 17 — WEISS, F. — 1945 — Viruses, virus diseases and similar maladies of potatoes, *Solanum tuberosum* L. *The Plant Disease Reporter*, Supplement, 155: 82-140.
-

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Estampa 10

- Fig. A — Coleção de batatinhas colombianas de caráter silvestre ou semicultivada.
- Fig. B — Coleção de batatinhas colombianas de variedades comerciais do grupo "Criolla", como também do grupo de "papas del año".

Estampa 11

- Fig. C — Formação de grandes estolhos fóra da terra do vaso, na amostra de batatinha silvestre ou semicultivada "Quire" De.
- Fig. D — Formação dos novos tubérculos em estolhos compridos, estendendo-se para longe do colo da planta-mãe, na amostra silvestre ou semicultivada "Chava blanca A2d" (à direita), em comparação com a formação de um único agrupamento de novos tubérculos perto do colo na amostra "A1e", que provavelmente não é do grupo "Chava" (à esquerda).

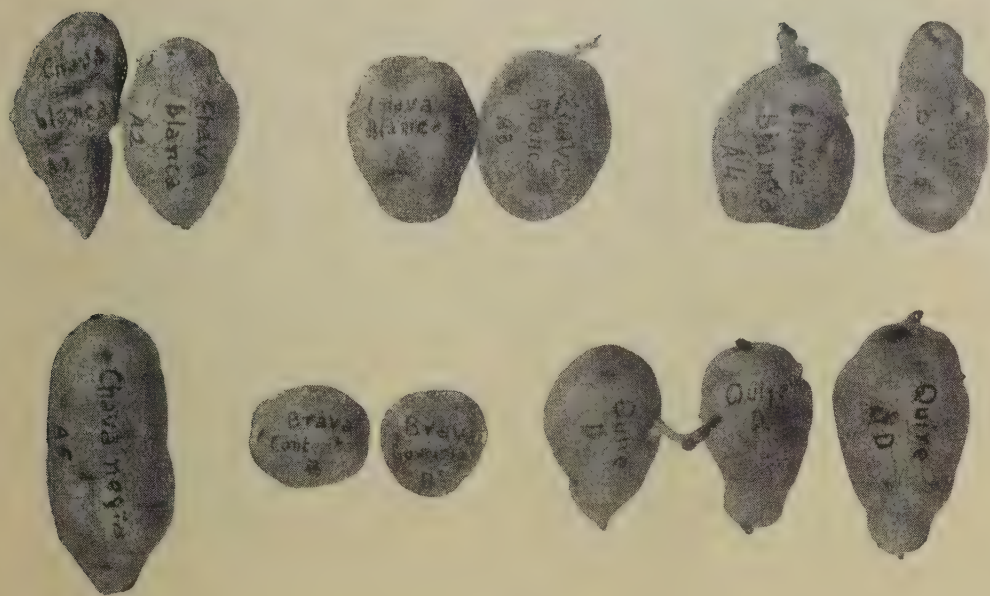
Estampa 12

- Fig. E — Fôlha de planta sadia de *Nicotiana Tabacum* "White Burley" (à direita) em comparação com uma fôlha da mesma variedade de fumo (à esquerda) exibindo as placas anulares cloróticas, causadas por infecção sistêmica da planta com a amostra "Chava" blanca A2a.
- Fig. F — Experiências de "inoculação protetiva" de plantas de fumo (White Burley) com um eventual vírus encerrado pela amostra de batatinha colombiana "Chava" A3b (fila superior) e com o vírus contido na amostra "Chava" A2a. As duas plantas à direita (nas duas fileiras) receberam superinoculação com o vírus X; as duas do centro com o vírus Y, e as duas à esquerda ficaram sem superinoculação. Notam-se os sintomas de uma doença complexa nas plantas da fila inferior, tratadas primeiramente com o vírus encerrado pela amostra "Chava" A2a e superinoculadas com o vírus X.

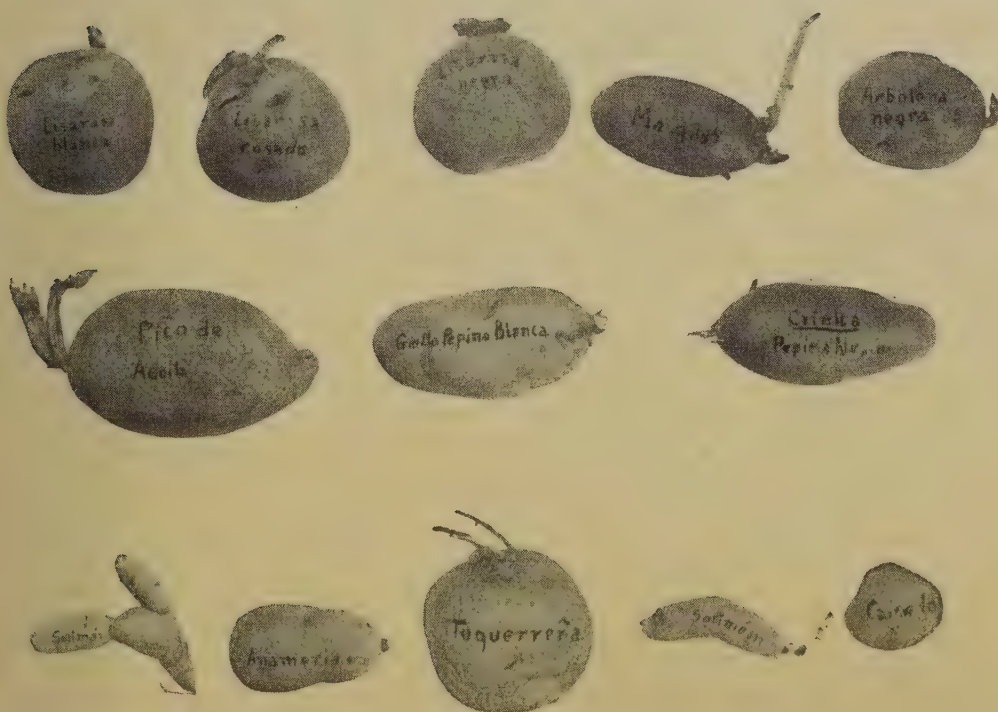
Estampa 13

Planta sadia de *Nicotiana glutinosa* (à esquerda) e 3 plantas da mesma espécie inoculadas com suco da amostra de batatinha colombiana "Chava" A2a (à direita).

(Fot. B. Mazza)



A

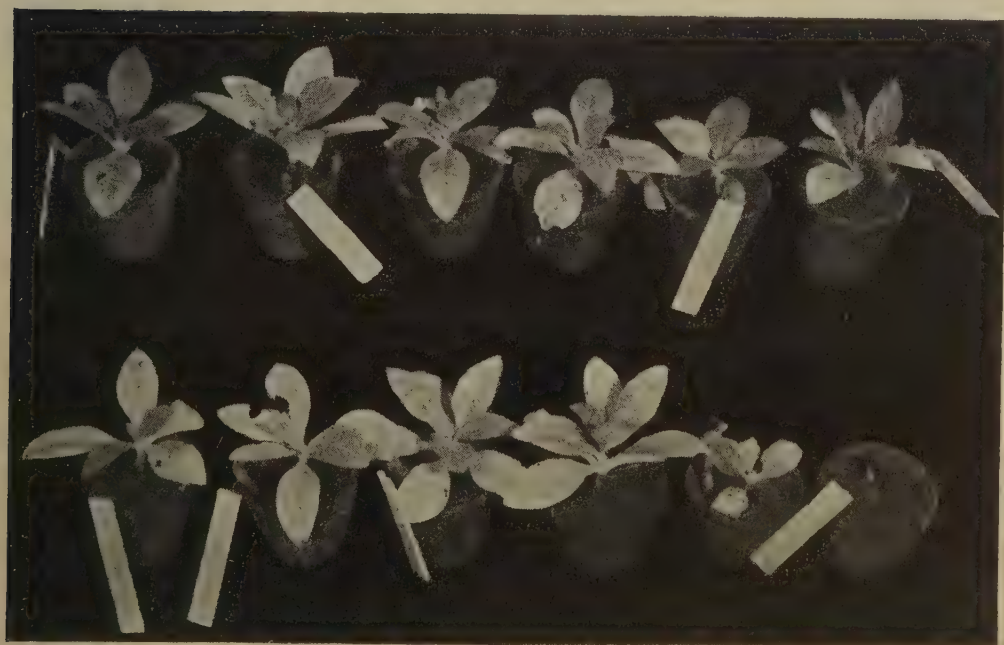
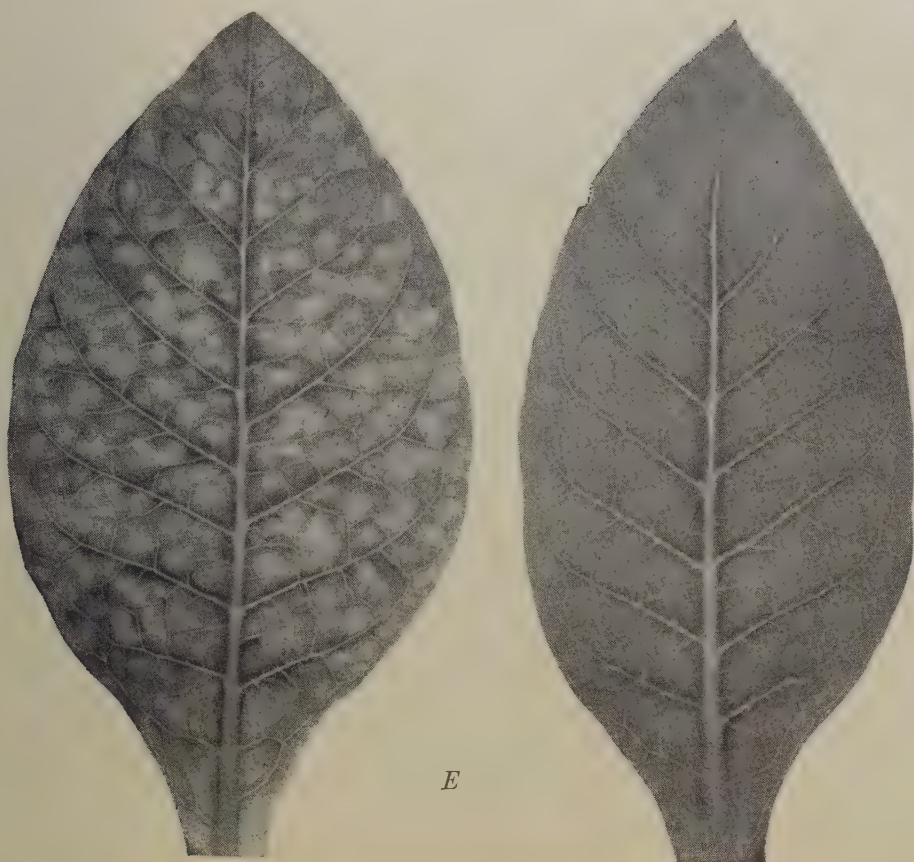
*B*



C



D





ESTUDOS SOBRE A "TRISTEZA" DOS CITRUS

I. - ANALISE ESTATISTICA DA DISTRIBUIÇÃO DAS AR-
VORES DOENTES DE UM POMAR DE LARANJEIRA
DOCE ENXERTADA SOBRE LARANJEIRA AZEDA.

POR

A. A. Bitancourt e A. J. Rodrigues Filho (*)

Do Instituto Biológico de São Paulo e do Instituto Agronomico de Campinas

Com 5 figuras no texto

A "tristeza" dos Citrus, grave doença da laranjeira doce (*Citrus sinensis* (L.) OSB.), da tangerineira (*Citrus reticulata* BLANCO) e do pomelo (*Citrus paradisi* MACF.), quando enxertados sobre laranjeira azeda (*Citrus aurantium* L.), manifestou-se em primeiro lugar em pomares da provincia de Corrientes, na República Argentina, em torno de 1931 e 1932 (CARRERA 1933). A doença estendeu-se em seguida às diversas provincias e territórios argentinos (BITANCOURT 1941-1942, MARCHIONATTO 1945), Uruguay (BERTELLI 1944), Paraguay (ANÔNIMO 1945), e finalmente ao Brasil, onde apareceu por volta de 1936 ou 1937 no Vale do Paraíba, perto de Jacareí, e provavelmente na mesma época, ou anteriormente, na zona do litoral, perto de São Sebastião (BITANCOURT 1940, 1943). Posteriormente foi igualmente assinalada no Estado do Rio de Janeiro e no Distrito Federal (ANÔNIMO 1943).

Desde o seu aparecimento no Estado de São Paulo, a doença tem sido o objeto de numerosos estudos por técnicos da Secretaria da Agricultura deste Estado. No Instituto Biológico, esses estudos já foram em parte publicados, quase sempre, porém, em curtas notas prévias ou em artigos de divulgação, destinados a tornar conhecidos os resultados mais significativos, suscetíveis de orientar outras pesquisas, contribuir para a melhor identificação das plantas doentes, ou para o estabelecimento de medidas de prevenção ou combate à doença. Com o presente trabalho começamos a publicação definitiva desses estudos.

A. A. BITANCOURT

(*) - Ex-Diretor da Estação Experimental de Limeira

INTRODUÇÃO

O estudo da distribuição das plantas doentes num campo de cultura pôde fornecer dados interessantes quanto ao modo de propagação do mal e dessa forma esclarecer o mecanismo dessa propagação. Certas doenças podem se propagar sómente por sementes, ou, no caso de plantas que se multiplicam vegetativamente, sómente por estacas, borbulhas, tubérculos, etc.. Não havendo propagação no campo, e si não houver, conforme é geralmente o caso, no momento do plantio, uma disposição sistemática das sementes ou das plantas, que determine o agrupamento das plantas doentes em algumas partes da plantação, a distribuição destas últimas se faz completamente ao acaso, o que se pôde verificar por meio de uma análise estatística.

Ao contrário, nos casos em que uma planta inicialmente doente se torna um fóco de infecção para as plantas vizinhas, a análise estatística mostra que as plantas doentes não se distribuem ao acaso, havendo sempre um agrupamento mais ou menos pronunciado dessas plantas. Em geral a principal utilidade da análise é verificar si a distribuição das plantas doentes apoia ou não as hipóteses que, baseado nos conhecimentos que se têm sobre a doença, é possível fazer quanto ao seu modo de propagação. Si, por exemplo, se têm razões para suspeitar que a doença se propaga por meio de um inséto vetor, pode-se esperar que a distribuição das plantas doentes seja influenciada pelos hábitos do inséto e pela possibilidade de ser êle levado pelos ventos dominantes para lugares mais ou menos distantes do fóco inicial.

COCHRAN (1936) mostrou como se podia fazer a análise estatística da distribuição das plantas doentes de forma a revelar o seu agrupamento e o modo pelo qual este se processou. Êle analisa, quer as plantas doentes em conjunto, quer as suas relações de posição em uma série de levantamentos sucessivos.

BITANCOURT e FAWCETT (1944) estudaram por um método próprio a distribuição das árvores atacadas de psorose em pomares de laranjeira doce e mostraram que o número maior de plantas doentes junto de outras plantas doentes, do que junto de plantas sãs, era, para esta doença, significante estatisticamente e podia explicar-se pela propagação da doença de árvore doente a árvore sã por enxertia natural de raízes.

ZENTMYER, WALLACE e HORSFALL (1944) mostraram que a porcentagem de plantas doentes, expressa em probitos, apresentava

uma relação linear com o logaritmo da distância ao fóco de infecção. A distância, neste caso, apresenta-se como um “fator de dosagem” dos germes da doença, ou de seus vetores, e a porcentagem de plantas doentes a determinada distância é tomada como a probabilidade das plantas se infectarem, o que permite aplicar a este caso os métodos estatísticos desenvolvidos para os problemas de toxicologia.

O presente trabalho teve por fim aplicar esses diversos métodos estatísticos à distribuição de plantas doentes num pomar de laranja atacado de “tristeza”, e discutir as conclusões que se podiam tirar, quanto à natureza da doença e seu modo de propagação, e notadamente qual o apoio que este estudo podia dar às diversas hipóteses que foram formuladas sobre a etiologia da doença.

LEVANTAMENTO E CONTAGENS DAS ARVORES DOENTES

O pomar cujo mapa foi utilizado no presente estudo é o do ensaio de adubação de laranja Bahia (*Citrus sinensis* (L.) Osb.) enxertada sobre laranja azeda (*Citrus aurantium* L.) instalado na Estação Experimental de Limeira, do Instituto Agronomico do Estado de São Paulo. O referido ensaio foi planejado e inicialmente executado por C. B. WRIGHT, tendo SYLVIO MOREIRA prosseguido na sua execução. O aparecimento da tristeza nas laranjeiras doces enxertadas em laranja azeda, no Estado de São Paulo, e no próprio pomar em apreço, fez que fosse abandonada a experiência de adubação inicialmente planejada, passando o pomar a ser utilizado para numerosos estudos relativos à nova doença.

O pomar acha-se localizado num terreno plano, tendo sido muito uniformes os tratos culturais anteriores e posteriores ao plantio, afim de assegurar ao ensaio condições de ambiente as mais uniformes possíveis. As mudas utilizadas no plantio, que foi feito em Dezembro de 1933 e apresenta a disposição em quadrado, provieram de 4 pés de laranja Bahia, de um pomar de Limeira, produtores de frutos de excelentes qualidades, e cujas borbulhas foram enxertadas sobre porta-enxertos de laranja azeda, oriundos de sementes obtidas de frutos sadios e bem desenvolvidos, em pés existentes na Fazenda Bom Jardim, Remanso, Estado de São Paulo. Os cuidados tidos na formação das mudas e escolha do terreno resultaram na obtenção de um pomar com árvores de desenvolvimento sensivelmente uniforme, livres de doenças ou pragas sérias, até a irrupção da “tristeza”.

Não existe no Estado de São Paulo, e provavelmente em todo o país, um pomar em que, desde a escolha do terreno, das borbulhas e mudas porta-enxerto, até o plantio e os tratos culturais anualmente praticados, fosse observado tanto rigor com o fim de se obter a maior uniformidade possível. Ele apresentava pois as condições mais favoráveis que se podiam desejar para o estudo da distribuição das plantas doentes que faz o objeto do presente trabalho.

Um estudo da homogeneidade desse pomar, quanto ao número e o peso das frutas de cada árvore foi feito por BRIEGER e MOREIRA (1941).

A tristeza manifestou-se nesse pomar mais tarde do que em outras secções da Estação Experimental, situadas mais próximo da séde. A fig. 1 reproduz um mapa da estação. A tristeza iniciou-se provavelmente em torno de 1938, em algumas plantas dos canteiros de variedades (A, fig. 1). Em 1940 apareceram árvores doentes nas combinações de enxertia suscetíveis do ensaio experimental de porta-enxertos para a laranjeira Bahianinha (B, fig. 1). A doença já estava bastante adiantada nesse ensaio, quando apareceram em princípio de 1941 os primeiros casos da doença no ensaio de adubação (C, fig. 1) cuja análise constitue o objéto do presente trabalho. Em meiado de 1943 registraram-se casos em pomares mais distantes da séde: o ensaio de porta-enxertos para pomelo (D, fig. 1) e o de porta-enxertos para laranjeira Pera (E, fig. 1). Convém dizer que estas diversas secções da estação acham-se separadas entre si por quebra-ventos constituídos por fileiras de eucaliptos com uma distância mínima de 40 metros às linhas mais próximas dos diferentes pomares. Estas fileiras estão representadas por pequenos círculos na fig. 1.

Os levantamentos foram efetuados numa parte do pomar que compreende 3 carreiras de 58 pés e 32 carreiras de 76 pés, ou seja um total de 2.606 árvores. Eles foram executados em 28 de Novembro de 1942, 8 de Outubro de 1943 e 3 de Janeiro de 1945, e serão aqui designados por primeiro, segundo e terceiro levantamentos, respectivamente. No primeiro foram contadas 306 árvores doentes ou seja uma porcentagem de 11,74. O total das árvores doentes nos levantamentos seguintes foi de 502 e 1.431, com as porcentagens de 19,26 e 54,91, respectivamente. Outros levantamentos foram feitos nos anos seguintes, mas esses não foram utilizados. A fig. 2 representa o resultado dos três levantamentos.

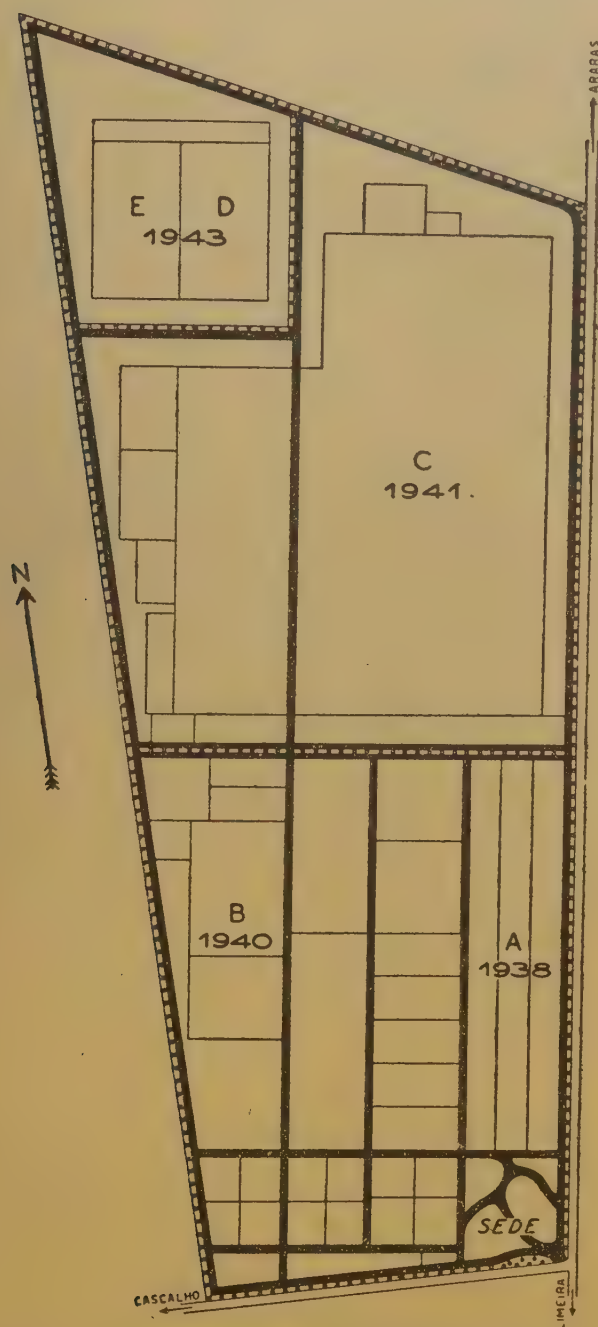


Fig. 1 - Mapa da Estação Experimental de Limeira mostrando os diversos pomares e o ano em que neles foi constatada a tristeza pela primeira vez. A, coleção de variedades. B, ensaio de porta-enxertos para laranja Bahianinha. C, ensaio de adubação. D, ensaio de porta-enxertos para pomelo. E, ensaio de porta-enxertos para laranja Pera.

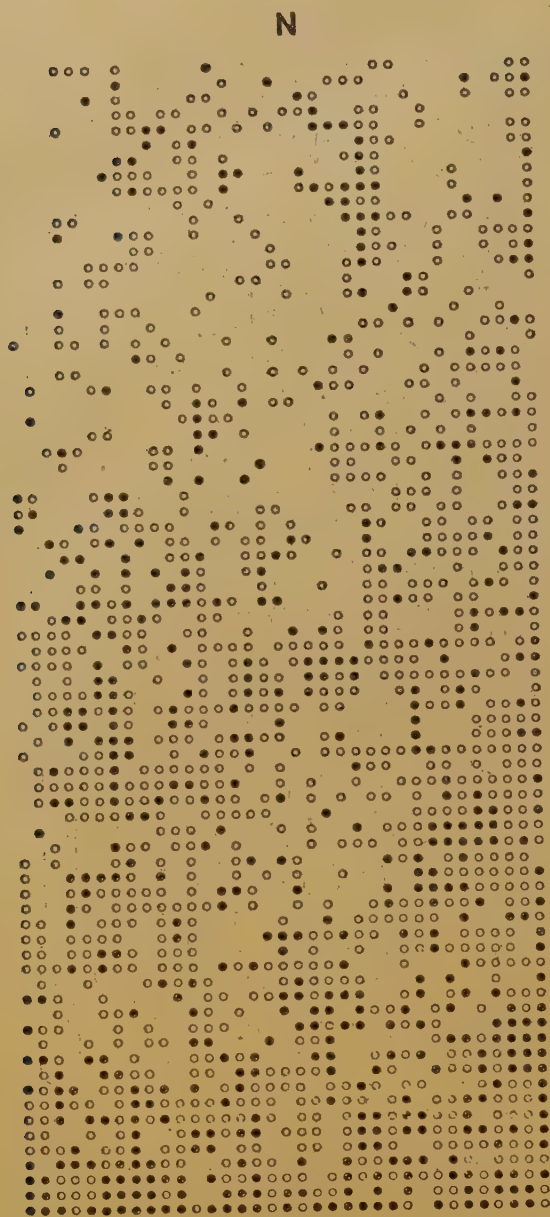


Fig. 2 - Mapa da distribuição das árvores atacadas de tristeza no pomar do ensaio de adubação da Estação Experimental de Limeira (C, figura 1). Os círculos pretos representam as árvores doentes no levantamento de 28 de Novembro de 1942, os círculos com sectores brancos e pretos, as do levantamento de 8 de Outubro de 1943, e os círculos brancos as do levantamento de 3 de Janeiro de 1945. As árvores sãs neste ultimo levantamento não foram representadas.

No presente trabalho serão designadas por “colunas” as carreiras de árvores que se acham no sentido do maior comprimento do mapa, correspondente aproximadamente à direção Norte-Sul. As “linhas” são constituídas pelas carreiras tomadas na direção perpendicular à primeira e portanto Leste-Oeste. Designamos por “primeira diagonal” as carreiras na direção Noroeste-Sueste, e por “segunda diagonal” as da direção perpendicular à primeira.

O intervalo entre duas árvores ao longo das linhas e colunas é de oito metros e será designado por L. O intervalo ao longo das duas diagonais é naturalmente $8 \times \sqrt{2}$ e será designado por 1,4 L. As árvores doentes no momento do primeiro levantamento serão designadas pelo algarismo 1; as que foram assinaladas no segundo levantamento, por 2, e as do terceiro, por 3. As árvores que ainda estavam sãs no momento do terceiro levantamento serão designadas por 0.

Considerando grupos de duas árvores ao longo de uma carreira há 16 combinações possíveis quanto ao estado dessas plantas nos três levantamentos do pomar e que são as seguintes: 1 — 1, 1 — 2, 1 — 3, 1 — 0, 2 — 1, 2 — 2, 2 — 3, 2 — 0, 3 — 1, 3 — 2, 3 — 3, 3 — 0, 0 — 1, 0 — 2, 0 — 3 e 0 — 0.

Tomando-se por exemplo a primeira coluna, à esquerda do pomar na figura 2, temos, quando seguimos a coluna de baixo para cima, para os pares de árvores à distância L, a combinação 11 para o grupo constituído pela primeira e a segunda árvore; a combinação 11 para a segunda e a terceira; ainda a combinação 11 para a terceira e a quarta; e assim, sucessivamente, as combinações 13, 33, 33, 33, 31, 10, 01, 10, 02, 20, 01, 10, etc.. Continuando a operação até o fim da coluna e somando o número de vezes em que cada uma das 16 combinações se apresenta, encontramos as seguintes frequências: 3, 0, 2, 4, 0, 0, 0, 2, 2, 0, 10, 5; 3, 2, 6; 18, na ordem das 16 combinações dadas acima. A operação é repetida para cada coluna e as frequências de cada combinação são somadas. Cada árvore é utilizada duas vezes na contagem, com exceção da primeira e da última árvore de cada carreira, que são utilizadas uma só vez, o mesmo acontecendo para a distância L, ao longo das linhas, e para a distância 1,4 L ao longo das diagonais.

Para a distância 2 L temos, na mesma coluna, a combinação 11 para a primeira e a terceira árvore, 11 para a segunda e a quarta, 13 para a terceira e a quinta, e assim sucessivamente 13, 33, 33, 33,

31, 30, 11, etc.. Neste caso, como também no da distância 2,8 L ao longo das diagonais, só são utilizadas uma vez as duas árvores do começo e as duas do fim de cada carreira. Da mesma forma, para 3 L, há 3 árvores e para 4 L, 4 árvores, no começo e no fim das carreiras que só são utilizadas uma vez nas contagens, sendo as outras todas usadas duas vezes.

As contagens foram feitas na direção Sul-Norte ao longo das colunas, Leste-Oeste ao longo das linhas, Sueste-Noroeste ao longo da primeira diagonal e Nordeste-Sudoeste ao longo da segunda diagonal; para as distâncias L, 2 L, e 3 L, ao longo das linhas e colunas, para a distância 4 L ao longo das colunas e para as distâncias 1,4 L e 2,8 L, ao longo das duas diagonais. As frequências obtidas nessas diversas contagens constam da tabela 1.

TABELA 1

Frequência das diversas combinações possíveis em grupos de duas árvores do pomar de adubação da Estação Experimental de Limeira, de acordo com a incidência da "tristeza" nos três levantamentos de 1942, 1943 e 1945.

Combina- ção *	DISTANCIA ENTRE AS DUAS ARVORES										
	Colunas				Linhas			1. ^a diagonal		2. ^a diagonal	
	L	2 L	3 L	4 L	L	2 L	3 L	1,4 L	2,8 L	1,4 L	2,8 L
1 — 1	89	66	47	53	71	50	53	61	54	64	52
1 — 2	32	37	31	25	26	25	23	24	24	26	20
1 — 3	109	122	108	130	113	112	96	113	107	96	96
1 — 0	75	80	118	95	85	103	111	96	104	90	91
2 — 1	25	29	20	23	35	31	28	31	18	30	22
2 — 2	19	15	16	20	17	17	14	16	12	18	21
2 — 3	80	74	90	84	79	61	61	76	78	80	74
2 — 0	73	75	63	63	63	81	82	71	78	60	63
3 — 1	89	92	96	101	114	116	112	102	106	116	115
3 — 2	78	69	68	69	78	75	63	71	74	68	66
3 — 3	411	385	357	337	376	330	331	363	326	371	310
3 — 0	342	368	385	389	338	358	352	362	359	345	371
0 — 1	84	85	100	78	74	87	86	79	76	82	95
0 — 2	60	66	65	58	60	55	65	64	50	68	61
0 — 3	320	327	340	330	321	347	318	329	322	335	359
0 — 0	685	646	597	611	680	606	583	638	600	648	575

* - 1, árvores doentes no 1.º levantamento.

2, árvores doentes no 2.º levantamento e sãs no levantamento anterior.

3, árvores doentes no 3.º levantamento e sãs nos levantamentos anteriores.

0, árvores ainda sãs no 3.º levantamento.

TABELA 2

Porcentagens de plantas adjacentes doentes no segundo ou no terceiro levantamento, junto de plantas centrais doentes no primeiro ou no segundo levantamento e junto de plantas centrais sãs no primeiro ou no segundo levantamento.

Carreiras	Direção	Distância entre as árvores	Levantamentos 1-2			Levantamentos 1-3			Levantamentos 2-3		
			Doentes	Sãs	Difer.	Doentes	Sãs	Difer.	Doentes	Sãs	Difer.
Colunas	Norte	L	16,92	8,78	8,14**	11,84	6,38	5,46**	9,87	6,63	3,24**
		2 L	19,79	9,72	10,07**	13,42	6,84	6,58**	9,42	6,88	2,54*
		3 L	17,22	10,99	6,23**	12,07	10,14	1,93	11,43	6,03	5,40**
		4 L	13,73	11,03	3,51*	14,75	8,20	6,55**	11,20	5,92	5,28**
	Sul	L	12,69	8,36	4,33*	9,67	7,32	2,35*	9,38	5,63	3,75**
		2 L	15,03	8,69	6,34**	10,07	7,55	2,52*	8,39	6,36	2,03
		3 L	10,59	9,76	0,83	10,60	9,07	1,53	8,39	6,48	1,91
		4 L	12,11	9,07	3,04	11,27	7,23	4,04**	8,68	5,81	2,87*
Linhas	Oeste	L	14,37	9,63	4,74*	12,70	7,30	5,40**	10,18	5,83	4,35**
		2 L	14,53	10,76	3,77	13,18	8,97	4,21**	8,26	7,76	0,50
		3 L	13,94	10,71	3,23	11,91	9,84	2,07	8,58	8,07	0,51
	Leste	L	18,03	9,20	8,83**	12,59	6,52	6,07**	9,86	5,66	4,20**
		2 L	16,32	10,29	6,03**	13,20	7,95	5,25**	9,83	5,46	4,37**
		3 L	15,12	10,37	4,75*	13,05	8,18	4,87**	8,44	6,73	1,71
1a. diagonal	Noroeste	1,4 L	13,72	10,20	3,52	12,82	8,23	4,59**	9,89	6,63	3,26**
		2,8 L	15,00	10,69	4,31	12,83	9,12	3,71**	10,73	7,52	3,21*
	Sueste	1,4 L	15,98	9,01	6,97**	11,36	7,12	4,24**	8,92	6,21	2,71*
		2,8 L	9,67	9,51	0,16	12,26	7,25	5,01**	9,74	5,14	4,60**
2a. diagonal	Sudoeste	1,4 L	14,45	9,18	5,27*	10,90	7,88	3,02*	10,18	5,69	4,49**
		2,8 L	11,91	9,65	2,26	11,43	8,27	3,16*	9,96	6,24	3,72**
	Nordeste	1,4 L	15,96	9,74	6,22**	12,88	7,23	5,65**	8,68	6,47	2,21*
		2,8 L	12,22	10,77	1,45	13,34	8,72	4,62**	8,83	6,13	2,70*

* - Valores de χ^2 significantes (limite fiducial 2,706) da tabela de contingencia que forneceu as porcentagens.

** - Valores de χ^2 altamente significantes (limite fiducial 5,412) da tabela de contingencia que forneceu as porcentagens.

ANALISE PARCELADA

Os dados da tabela 1 foram utilizados para analisar a ocorrência de árvores doentes no 2.º e no 3.º levantamentos, situadas a diversas distâncias de árvores doentes no primeiro levantamento.

Análise do primeiro e do segundo levantamento — Considerando por exemplo o caso das colunas, na distância L, vemos que uma combinação, digamos 1 — 2, exprime que, na direção em que foi feita a leitura, ou seja, a direção Norte, há uma árvore doente no primeiro levantamento seguida de uma árvore doente no segundo levantamento. Seguindo a nomenclatura usada por BITANCOURT e FAWCETT (1944), designaremos por árvore central a primeira das duas e por árvore adjacente a segunda, empregando esta designação qualquer que seja a distância entre as duas. De acôrdo com os símbolos adotados, as árvores analisadas são as seguintes:

Árvores doentes no primeiro levantamento	1
Árvores sãs no primeiro levantamento	2, 3 e 0
Árvores doentes no segundo levantamento e sãs no primeiro	2
Árvores sãs no segundo levantamento	3 e 0

Os diversos grupos de 2 plantas foram divididos em 4 categorias que enumeramos a seguir, com as combinações correspondentes. A título de exemplo damos entre parenteses a frequência de cada combinação para as colunas, na direção Norte distância L, tirada da segunda coluna da tabela 1.

1.º árvores centrais doentes no primeiro levantamento seguidas de uma árvore adjacente doente no segundo levantamento: combinação 1 — 2, (32).

2.º árvores centrais doentes no primeiro levantamento seguidas de uma árvore adjacente sã no segundo levantamento: combinações 1 — 0 (75) e 1 — 3 (109), frequência total: 184.

3.º árvores centrais sãs no primeiro levantamento seguidas de uma árvore adjacente doente no segundo levantamento: combinações 2 — 2 (19), 3 — 2 (78), e 0 — 2 (60), frequência total: 157

4.º árvores centrais sãs no primeiro levantamento seguidas de uma árvore adjacente sã no segundo levantamento: combinações: 2 — 0 (73), 3 — 0 (342), 0 — 0 — (685), 2 — 3 (80), 3 — 3 (411) e 0 — 3 (320), frequência total: 1911.

Utilizando as quatro frequências assim obtidas, teremos a seguinte tabela de contingência (COCHRAN 1936)

Árvore central Condição no primeiro levantamento	Árvore adjacente Condição no segundo levantamento		
	Doente	Sã	Total
Doente	32	184	216
Sã	157	1911	2068
Total	189	2095	2284

Vemos assim que das 189 árvores adjacentes doentes no segundo levantamento, 32 ou 16,92% estavam ao lado de árvores centrais doentes no primeiro levantamento, ao passo que das 2095 árvores sãs no segundo levantamento, 184 ou 8,78% achavam-se nas mesmas condições. Há portanto um excesso de 8,14% para as árvores doentes no segundo levantamento, em relação às sãs. Estas porcentagens e sua diferença, estão consignadas na primeira linha da tabela 2, colunas 4, 5 e 6.

A significância estatística da diferença entre as duas porcentagens é convenientemente determinada pelo usual teste de independência de uma tabela de contingência, baseado na distribuição de χ^2 . Conforme observa COCHRAN (1936), neste teste o valor de χ^2 correspondente ao nível fiducial de 5% é 2,706 e não 3,841, pois consideramos somente a possibilidade da proporção de plantas doentes no segundo levantamento junto a plantas doentes no primeiro ser maior do que a proporção de plantas sãs nas mesmas condições e nunca menor. Da mesma forma para o limite fiducial 1%, tomaremos o valor de $\chi^2 = 5,412$.

Aplicando o teste de χ^2 ao exemplo acima, com a correção de Yates, encontramos 12,51, ou seja um valor altamente significativo, incompatível com a hipótese de independência entre a condição das árvores adjacentes no segundo levantamento e a das árvores centrais no primeiro levantamento.

Como as colunas têm, de baixo para cima, a direção Sul-Norte, analisando como fizemos as árvores adjacentes que seguem as árvores centrais, estamos realmente fazendo um teste da hipótese de que a doença se está propagando das árvores centrais doentes para as árvores adjacentes na direção Norte. Si, ao contrário, fizermos a análise para as árvores adjacentes que precedem as árvores centrais, estaremos fazendo o teste para a propagação na direção oposta, ou seja na direção Sul. E' fácil ver que neste caso as combinações correspondentes a cada uma das quatro categorias da

tabela de contingência serão as mesmas que no caso anterior, porém com os algarismos invertidos, ou seja:

1.º árvores centrais doentes no primeiro levantamento precedidas de uma árvore adjacente doente no segundo levantamento: 2 — 1.

2.º árvores centrais doentes no primeiro levantamento precedidas de uma árvore adjacente sã no segundo levantamento: 0 — 1 e 3 — 1.

3.º árvores centrais sãs no primeiro levantamento precedidas de uma árvore adjacente doente no segundo levantamento: 2 — 2, 2 — 3 e 2 — 0.

4.º árvores centrais sãs no primeiro levantamento precedidas de uma árvore adjacente sã no segundo levantamento: 0 — 2, 0 — 3, 0 — 0, 3 — 2, 3 — 3 e 3 — 0.

Com os dados da tabela 1 referentes às colunas, distancia L, encontramos para as frequências dos quatro grupos: 25, 173, 172 e 1896, respectivamente, o que nos dá porcentagens de 12,69 para as plantas doentes no segundo levantamento precedendo plantas doentes no primeiro e 8,36 para as plantas sãs no segundo levantamento precedendo plantas doentes no primeiro. A diferença 4,33 é significativa, conforme mostra o valor de χ^2 que é de 3,70.

O método que acabamos de descrever para as colunas, para pares de árvores à distancia L, quando aplicado às linhas e às diagonais, fornece um teste para a hipótese de uma propagação da doença nas direções Oeste, Leste, Sudoeste, Nordeste, Sueste e Noroeste. Ele pode igualmente ser aplicado, para tôdas essas direções, a pares de árvores separadas por distancias superiores a L, ou 1,4 L, ou seja 2 L, 3 L, 4 L, e 2,8 L. Os resultados obtidos com a aplicação deste método aos dados da tabela 1 estão consignados na tabela 2, nas colunas correspondentes aos levantamentos 1 — 2.

As diferenças de porcentagens da 6.ª coluna da tabela 2 foram utilizadas para a confecção do diagrama da figura 3. Neste diagrama a cruz central representa uma árvore central doente no primeiro levantamento e os círculos pretos as árvores adjacentes doentes no segundo levantamento. O diametro dos círculos é proporcional à diferença de porcentagens. O diagrama representa portanto a infectividade de uma árvore doente no primeiro levantamento em relação às 22 árvores vizinhas, notando-se que, em regra geral, conforme se podia esperar, quanto mais afastada a árvore adjacente, menor a porcentagem com que foi contaminada pela árvore central.

Análise do primeiro e do terceiro levantamento — Até o presente somente analisamos o caso das plantas doentes no primeiro e no segundo levantamento. Há diversas maneiras de utilizar os dados referentes ao 3.º levantamento.



Fig. 3 - Diagrama representativo da infectividade de uma planta doente no primeiro levantamento representada pela cruz central, em relação às plantas doentes no segundo levantamento, nas 22 posições mais próximas da primeira. O diâmetro dos círculos é proporcional às diferenças da 6.ª coluna da tabela 2.

Pode-se, por exemplo, considerá-los em relação aos do primeiro levantamento, em relação aos do segundo, aos do primeiro e segundo em conjunto, ou ainda considerá-los conjuntamente com os

dados do segundo levantamento, em relação aos do primeiro. Julgamos suficiente para o fim que nos propomos, realizar somente as duas primeiras análises, isto é, considerar os dados do terceiro levantamento em relação aos do primeiro e aos do segundo, separadamente.

Para a análise dos dados do primeiro e do terceiro levantamentos, as quatro categorias em que se dividirão as nossas diversas combinações serão:

1.º árvores centrais doentes no primeiro levantamento seguidas de uma árvore adjacente doente no terceiro levantamento: 1 — 3.

2.º árvores centrais doentes no primeiro levantamento seguidas de uma árvore adjacente sã no terceiro levantamento: 1 — 0.

3.º árvores centrais sãs no primeiro levantamento seguidas de uma árvore adjacente doente no terceiro levantamento: 2 — 3, 3 — 3 e 0 — 3.

4.º árvores centrais sãs no primeiro levantamento seguidas de uma árvore adjacente sã no terceiro levantamento: 2 — 0, 3 — 0 e 0 — 0.

Por exemplo, as frequências correspondentes a estes grupos serão, para as colunas, na distancia L, respectivamente 109, 75, 811 e 1100. As análises corresponderão às direções Norte, Oeste, Noroeste e Sudoeste. Bem entendido, como no caso anterior, invertendo a ordem dos algarismos, teremos as combinações para as análises das direções opostas.

Análise do segundo e do terceiro levantamentos — Neste caso as combinações correspondentes a cada uma das quatro categorias da tabela de contingencia serão respectivamente: 2 — 3; 2 — 0; 3 — 3 e 0 — 3; 3 — 0 e 0 — 0. Serão utilizadas para as direções Norte, Oeste, Noroeste e Sudoeste. Invertendo a ordem dos algarismos teremos as combinações para as direções opostas.

O resultado da aplicação do método aos dados do terceiro levantamento constam das 6 últimas colunas da tabela 2. As diferenças de porcentagens foram empregadas na confecção do diagrama da fig. 3 onde foram reunidos os resultados referentes às duas análises do terceiro levantamento. Os meios círculos pretos são proporcionais às diferenças das porcentagens de análise do primeiro e terceiro levantamentos, os meios círculos hachurados às diferenças de porcentagens da análise do segundo e terceiro levantamentos.

ANALISE DO EFEITO DA DISTANCIA
SOBRE A PORCENTAGEM DE PLANTAS DOENTES

ZENTMYER, WALLACE e HORSFALL (1944) mostraram que quando uma doença se propaga a partir de um foco, a probabilidade de qualquer planta se infectar varia inversamente como o logaritmo da distancia ao referido foco. Como aplicação deste principio a um caso prático, êles estudaram a porcentagem de olmos que se tor-



Fig. 4 - Diagrama representativo da infectividade de uma planta doente no primeiro ou no segundo levantamento, representadas pela cruz central, em relação às plantas doentes no terceiro levantamento. O diametro dos meio-circulos pretos é proporcional às diferenças da 9.^a coluna da tabela 2, e dos meio-circulos hachurados às diferenças da 12.^a coluna da mesma tabela.

naram doentes, a diversas distancias de uma árvore anteriormente atacada pelo fungo *Ceratostomella ulmi* (SCHWARZ) BUISMAN, causador da chamada "doença holandesa do olmo" (*Dutch elm disease*) e espalhado por um besourinho (*Scolytus multistriatus* MARSH.). É evidente que quanto maior a distancia ao fóco, menor a quantidade destes vetores que podem infectar árvores sãs. A relação entre a probabilidade de uma planta estar doente e o logaritmo de sua distancia ao fóco, exprime, conforme salientaram os referidos autores, que a distancia se comporta com um "fator de dosagem" para os germes de infecção, ou melhor, no caso em apreço, do seu vetor.

A análise parcelada da primeira parte do presente trabalho mostrou que na vizinhança das árvores doentes num levantamento havia maior número de plantas doentes nos levantamentos seguintes do que na vizinhança de plantas sãs. Este fato apoia a hipótese de que a doença se espalha a partir das árvores doentes, quer diretamente pelo espalhamento de germes, quer pelo de seus vetores. Pareceu-nos pois interessante submeter os dados dos três levantamentos a uma análise semelhante à que foi feita pelos citados autores.

Um simples exame do mapa da figura 2 mostra que o máximo do número de plantas doentes ocorre na primeira linha inferior do pomar, ou seja na linha mais próxima aos focos constituídos pelas plantações onde primeiramente se manifestou a doença, anteriormente a 1942. Estas plantações acham-se separadas do pomar analisado por um quebra-vento constituído por uma fileira de eucaliptos, o que deve ter contribuído não somente para atrasar um tanto a propagação da doença para o referido pomar, como também para assegurar uma distribuição mais homogênea dos germes ou de seus vetores ao longo de toda a primeira linha de árvores.

Podemos pois considerar como fóco uma linha de direção Oeste-Leste, paralela às carreiras que designamos por linhas. Dividimos o pomar em uma série de parcelas, paralelas a esta linha-foco e compostas de 10 linhas cada uma. As 5 primeiras parcelas têm linhas de 35 árvores e contam portanto um total de 350 árvores cada uma. A sexta parcela tem 8 linhas de 35 árvores e duas de 32, ou seja um total de 344; a sétima tem 10 linhas de 32 árvores com 320 ao total; e finalmente a oitava parcela tem somente 6 linhas de 32 árvores, totalizando 192 árvores. Tomamos como distancias médias

destas 8 parcelas à linha-foco os valores arbitrários 5, 15, 25, 35, 45, 55, 65 e 73, respectivamente.

A tabela 3 consigna o número total de árvores doentes no primeiro, no segundo e no terceiro levantamentos para cada uma das 8 parcelas.

TABELA 3

Número de plantas doentes nos três levantamentos do mapa da figura 2, em parcelas de dez linhas paralelas à direção Oeste-Leste.

Distância média das parcelas à linha-foco	Número de árvores doentes nos levantamentos			Total de árvores
	1	2	3	
5	101	141	293	350
15	55	87	219	350
25	45	68	228	350
35	32	72	225	350
45	28	57	167	350
55	16	27	124	344
65	21	34	109	320
73	8	16	66	192

A análise desses dados foi feita, como no trabalho dos autores já citados, empregando-se o método de Bliss para a determinação da curva de dosagem-mortalidade em experiências de toxicologia (BLISS 1938). Para isto as distâncias foram transformadas em seus logaritmos; as porcentagens de árvores doentes por parcela foram transformadas em probitos, e foi feito um gráfico com os dados assim transformados. Uma linha reta de regressão provisória foi traçada a olho, neste gráfico e os probitos esperados foram calculados a partir da equação da referida linha. A partir dos probitos esperados e das porcentagens foram calculados os probitos corrigidos e o coeficiente de peso foi obtido a partir dos mesmos probitos e do total de árvores por parcelas. Calculou-se em seguida, pelo método dos mínimos quadrados uma linha de regressão definitiva a partir dos probitos corrigidos e logaritmos das distâncias, devidamente ponderados. As equações das três linhas assim calculadas são as seguintes:

$$1.^{\circ} \text{ levantamento} \quad Y = 5,110 - 0,9365 X$$

$$2.^{\circ} \text{ levantamento} \quad Y = 5,418 - 0,9127 X$$

$$3.^{\circ} \text{ levantamento} \quad Y = 6,879 - 1,1885 X$$

O teste de χ^2 para a linha de regressão do primeiro levantamento deu o valor de 3,651, que para 6 graus de liberdade tem uma probabilidade de 0,72 e não é portanto significativa. Conclue-se que a linha reta de regressão se ajusta satisfatoriamente aos dados experimentais. Não ocorre o mesmo para os dois outros levantamentos, para os quais encontramos 14,192 e 44,555, respectivamente como valor de χ^2 , o primeiro significativo e o último altamente significativo.

Os coeficientes de regressão das três retas não diferem significativamente. Por exemplo a diferença entre os coeficientes do segundo e do terceiro levantamento é $0,276 \pm 0,236$.

O gráfico da figura 5 representa as porcentagens de plantas doentes em cada parcela, nos três levantamentos, assim com as três linhas de regressão.

DISCUSSÃO

O fato de que a tristeza foi sucessivamente assinalada em diversos países da América do Sul, e, em cada um deles, também sucessivamente, em diversas províncias ou estados, e em diversas regiões destes últimos, constitui uma forte evidencia de que se trata de uma doença infecciosa, que se tem propagado, desde 1931, a tôdas essas regiões. Na Estação Experimental de Limeira, outra evidencia dessa propagação é fornecida pelo seu aparecimento sucessivo em diversas secções da estação, a partir da coleção de variedades onde possivelmente foi introduzida em árvores provenientes de alguma região onde a doença existia anteriormente. Um simples exame do mapa do pomar que analisamos também mostra que a doença se propagou na direção Norte, a distâncias cada vez maiores das linhas onde primeiro apareceu.

A análise parcelada confirma, para as árvores doentes, individualmente, essas diversas evidencias da propagação da doença. O diagrama da figura 3 porém mostra que, em torno de uma árvore doente no primeiro levantamento, houve propagação em tôdas as direções e não somente na direção Norte. Entretanto em torno de uma árvore doente no 1.º levantamento houve maior porcentagem de árvores doentes no segundo nas direções Norte, Nordeste, Este e Sueste do que nas direções opostas. Em conjunto, o diagrama mostra que a direção geral de propagação acha-se aproximadamente no quadrante Norte-Leste. Esta direção, a partir das árvores doentes, individualmente, não é devida ao fato de ela se orientar

para o lado onde havia maior número de árvores sãs, suscetíveis de serem contaminadas, pois sendo o método de análise baseado em porcentagens e não em frequências absolutas, é independente da

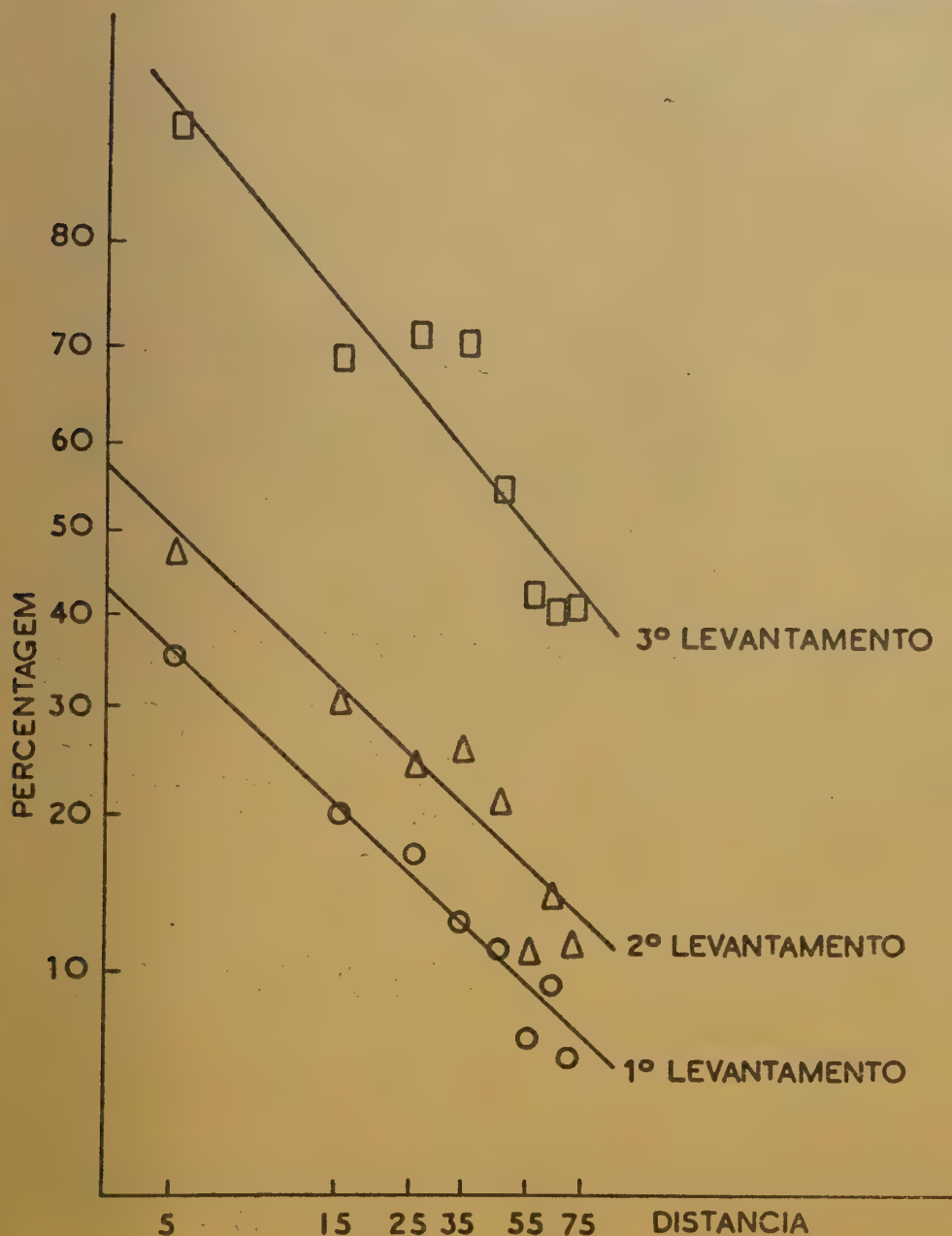


Fig 5 - Porcentagens de árvores doentes nos 3 levantamentos nas oito parcelas paralelas à linha-foco, a diversas distancias desta última. Os círculos correspondem ao levantamento de 28 de Novembro de 1942, os triângulos ao de 8 de Outubro de 1943 e os quadrados ao de 3 de Janeiro de 1945. Foram igualmente representadas as 3 linhas de regressão correspondentes.

quantidade de árvores que podem ficar doentes e indica verdadeiramente a infectividade da árvore central em tôdas as direções. Deve-se pois admitir que o fato de haver maior propagação na direção do quadrante Norte-Leste é devido a um movimento geral dos germes ou seus vetores nessa direção, possivelmente em razão dos ventos dominantes no intervalo entre a infecção das árvores doentes no primeiro levantamento e a das árvores doentes no segundo, o que infelizmente não nos é possível verificar.

O diagrama ainda mostra que, de um modo geral e conforme se podia esperar, quanto mais afastadas estão as árvores da árvore central doente no primeiro levantamento, menor a porcentagem das que se mostraram doentes no segundo. Apenas sofreram uma exceção a primeira e a segunda árvores adjacentes nas direções Norte, Sul e Noroeste, e as terceira e quarta na direção Sul, mas estes casos não têm provavelmente significancia estatística. Mesmo à distância relativamente considerável de 4 L ou seja 32 metros, na direção Norte, ainda há diferença significativa entre as porcentagens, indicando que a esta distância houve certo número de contaminações de árvores sãs, a partir de árvores centrais doentes. Além disso, empregando o método da análise em conjunto de BITANCOURT e FAWCETT (1944), que, por utilizar tôdas as plantas doentes do pomar, é afetado de erros menores do que a análise parcelada do 1.º e 2.º levantamento, encontramos para as quatro árvores à distância 5 L, ou seja 40 metros, uma média de 2,332 árvores doentes junto de árvores doentes e 1,852 junto de árvores sãs, sendo a diferença 0,480 altamente significativa. Da mesma forma, à distância $5 \times 1,4$ L, ou seja a mais de 56 metros das árvores centrais doentes, estas porcentagens eram 2,263 e 1,939, respetivamente, sendo igualmente altamente significativa a diferença 0,324. Aliás o exame do mapa da figura 2 mostra que desde o primeiro levantamento havia árvores doentes na parte mais distante do pomar, o que indica que a doença pode se propagar, a partir das árvores doentes, a distâncias ainda muito mais consideráveis do que 56 metros.

A diminuição da diferença das porcentagens com o afastamento das árvores adjacentes indica o “gradiente de infectividade” em torno da árvore central doente, e a êste respeito é interessante comparar o diagrama da fig. 3, com o que foi apresentado por BITANCOURT e FAWCETT (1944) nos seus estudos sobre a distribuição das árvores atacadas de psorose nos pomares da California. Embora neste último caso o diagrama fosse obtido por uma análise do con-

junto das árvores doentes, aplicada a grupos de quatro árvores a diversas distâncias de árvores centrais doentes, êle também indica um gradiente de infetividade que pode ser comparado ao que mostra a fig. 3. Vê-se que êste gradiente é muito mais acentuado no caso da psorose do que no caso da tristeza, isto é, as diferenças de porcentagens baixam muito mais rapidamente com o aumento da distância a partir da árvore central. Os citados autores atribuíram a propagação da psorose nos pomares à ocorrência de enxertias naturais de raízes entre árvores vizinhas. Compreende-se que, si a probabilidade de ocorrência de tais enxertias é por exemplo $1/a$, a probabilidade de se contaminar uma árvore à distância $2L$ da árvore central devido à formação de duas enxertias sucessivas será sómente $1/a^2$, o que para probabilidades pequenas significa uma queda muito rápida da probabilidade de contaminação com o aumento da distância.

Quanto ao diagrama da figura 4, êle confirma de um modo geral as conclusões que acabamos de formular em relação ao da figura 3. Nota-se porém que, ao passo que, para o intervalo de tempo entre a infecção das árvores do primeiro levantamento e a das do terceiro, ainda predominou a propagação no quadrante Norte-Leste, já no intervalo correspondente ao segundo e o terceiro houve propagação muito mais uniforme em todas as direções em torno das árvores centrais doentes. Além disso, o diametro menor dos circulos indica que a infectividade dessas árvores baixou no intervalo correspondente ao segundo e o terceiro levantamentos, ao passo que o menor decrescimo deste diametro com a distância à árvore central indica que o gradiente de infectividade durante o mesmo intervalo foi menos acentuado do que no período entre o primeiro e o segundo levantamentos.

A análise do efeito da distância nos permite tirar ainda outras conclusões. Em primeiro lugar deve-se notar que a réta de regressão sómente representa fielmente a relação da porcentagem de árvores doentes em probitos e da distância em logaritmo para os dados do primeiro levantamento, conforme mostra a não significância do valor de χ^2 encontrado. Para os dois levantamentos seguintes este valor é significativo e altamente significativo, respectivamente, o que sem dúvida deve ser atribuído à formação, já na época do primeiro levantamento, de focos secundários que podem ser vistos no mapa, notadamente na região centro-oeste e na extremidade norte do pomar.

Um fáto digno de menção é o de serem as linhas de regressão dos três levantamentos praticamente paralelas, pois as diferenças entre os coeficientes de regressão não são significantes. A inclinação destas linhas dá uma medida da diminuição da porcentagem de plantas doentes para dado aumento da distância, ou seja o gradiente geral de infecção no pomar, que não deve ser confundido com o gradiente de infectividade em torno dos pés doentes fornecido pela análise parcelada. Quanto mais facilmente uma doença se propagar a lugares distantes, tanto menos inclinada será a linha de regressão correspondente. Pode-se pois afirmar que não houve modificação no gradiente de infecção de tristeza no pomar analisado, nos diversos intervalos de tempo considerados no presente trabalho, pois de outra forma teríamos linhas de regressão diversamente inclinadas para cada um desses intervalos.

No gráfico da figura 5 ainda devemos considerar a posição das três linhas de regressão. Nota-se que a que corresponde ao 3.º levantamento está mais afastada da do segundo do que esta da do primeiro. Este fáto é expresso numericamente pelos valores do primeiro termo das três equações de regressão. Ele indica que o número absoluto de árvores que se tornaram doentes do 2.º para o 3.º levantamento é sensivelmente maior do que do 1.º para o 2.º, o que se compreende facilmente, uma vez que havia então número igualmente maior de árvores infectivas.

Até o presente temo-nos referido tão sómente de um modo geral ao agente infeccioso de doença ou de seu vetor. Tanto a análise parcelada como a do efeito da distância apoiam a hipótese da existência de semelhante agente e fornecem indicações quanto à maneira por que ele se propagou no pomar. No momento em que foi realizada a primeira parte destes estudos havia diversas hipóteses em voga sobre a etiologia da tristeza. Algumas delas atribuíam a doença a fatores mesológicos como o excesso ou a deficiência da precipitação atmosférica, as deficiências do solo em diversos elementos, a fatores fisiológicos como a incompatibilidade entre o enxerto e o porta-enxerto, ou ainda a agentes animais como a bróca do câmbio e o nematoide da raiz. (ANÔNIMO, 1942). Os presentes estudos mostraram que a distribuição das plantas doentes no pomar analisado não apoiavam essas hipóteses e ao contrário forneciam evidência em favor da que fazia da tristeza uma doença de vírus transmitida por um vetor (ANÔNIMO, 1944).

Os trabalhos do Instituto Biológico a cargo do primeiro autor foram então principalmente orientados na verificação dessa hipótese, por meio de transmissão experimental, empregando-se afídeos como vetores ou enxertia de borbulhas de plantas doentes. Entre os diversos insetos suscetíveis de transmitir o suposto vírus, os afídeos se apresentavam, de fato, como os que melhor explicavam os resultados dos estudos estatísticos, devido à sua frequência e abundância nos nossos pomares e à possibilidade das formas aladas serem transportadas a distâncias consideráveis pelos ventos dominantes da região. Em duas publicações recentes, MENEGHINI (1946, 1947) mostrou que efetivamente a tristeza póde ser transmitida pelo pulgão preto das laranjeiras, *Aphis tavaresi* DEL GUERCIO.

RESUMO E CONCLUSÕES

Foram feitos em 28 de Novembro de 1942, 8 de Outubro de 1943 e 3 de Janeiro de 1945, levantamentos das árvores atacadas de tristeza num pomar de laranjeira doce da variedade Bahia, enxertada sobre laranjeira azeda, da Estação Experimental de Limeira. A análise estatística da distribuição das árvores doentes foi feita em primeiro lugar pelo método de análise de levantamentos sucessivos de COCHRAN (1936) aplicado aos pés situados nas 22 posições mais próximas das árvores doentes no primeiro e no segundo levantamentos, e em segundo lugar pelo método de ZENTMYER, WALLACE e HORSFALL (1944), para parcelas de 350 árvores paralelas à primeira linha do pomar onde se apresentou o maior número de casos da doença no primeiro levantamento. Os resultados das duas análises dão apoio à hipótese de que a tristeza é uma doença infecciosa que póde propagar-se a grandes distâncias das plantas doentes. A primeira fornece informações sobre a "infectividade" das plantas doentes, a segunda sobre a marcha da infecção no pomar, em conjunto; elas conduzem às seguintes conclusões:

1.º a doença propagou-se das plantas doentes no primeiro levantamento para as plantas sãs nas 22 posições analisadas, em todas as direções, mas principalmente no quadrante Norte-Leste. Das plantas doentes no segundo levantamento a propagação se fez uniformemente em todas as direções.

2.º a infectividade das plantas doentes no primeiro levantamento foi maior do que a das plantas doentes no segundo.

3.º o "gradiente de infectividade" das plantas doentes no primeiro levantamento foi mais acentuado do que o das do segundo.

4.º a relação entre a porcentagem de plantas doentes no primeiro levantamento nas parcelas e a distância médias delas à extremidade do pomar onde se iniciou a infecção, é a que se podia esperar de uma distribuição ao acaso dos germes da doença ou seus vetores, sendo a distância considerada como um “fator de dosagem” desses germes ou vetores. Para o segundo e o terceiro levantamentos os dados se afastam da relação teórica, o que deve ser atribuído à formação de focos secundários em diversos pontos do pomar.

5.º o “gradiente de infecção” de uma extremidade do pomar à outra foi o mesmo nos três levantamentos.

Das diversas hipóteses sobre a etiologia da tristeza que tinham sido apresentadas no tempo em que foi iniciado o presente estudo, a que mais se coaduna com estes resultados é a de uma doença infecciosa cujos germes ou vetores têm grande facilidade de propagação a distâncias relativamente consideráveis, como por exemplo no caso em que a doença seja espalhada por um inseto alado. MENEGHINI mostrou recentemente que a tristeza é transmissível pelo pulgão preto das laranjeiras, *Aphis tavaresii*.

STUDIES ON THE “TRISTEZA” DISEASE OF CITRUS.

I. — STATISTICAL ANALYSES OF THE DISTRIBUTION OF DISEASED TREES IN AN ORCHARD OF SWEET ORANGE BUDDEN ON SOUR ORANGE.

A b s t r a c t

Diseased trees were recorded on a map on November 28, 1942, October 8, 1943 and January 3, 1945. Cochran's analysis of later counts and Zentmyer, Wallace and Horsfall's analysis of the effect of distance as a dosage factor on the percentage of diseased plants, were applied to the data and led to the following conclusions:

1.º *The disease spread in all directions from diseased trees, mostly in a north-easterly direction in the case of those of the first count, and with no predominant direction in those of the second count.*

2.º *The infectivity of diseased trees was higher in the case of those of the first count than in that of the second count.*

3.º *The “gradient of infectivity” around trees diseased at the first count was steeper than around those diseased at the second count.*

4.º The analysis of the effect of distance disclosed that in the first count it was consistent with the hypothesis of a random distribution of germs or their vectors when the distance is considered as a "dosage factor" of those germs or vectors. In the 2.º and 3.º counts the data departed from expectation undoubtedly due to the formation of secondary centers of infection.

5.º The "gradient of infection" in the orchard as expressed by the slope of the regression lines of the probit-logarithm graph remained the same in the three counts.

Of all the hypotheses on the etiology of tristeza that had been put forward at the time this study was begun, the only one that seems consistent with the above conclusions is that of an infectious disease with an easily spreading germ or vector, such as a winged insect. It has since been proved by Meneghini that tristeza is transmitted by the black citrus aphid *Aphis tavaresi*.

BIBLIOGRAFIA

- ANÔNIMO — 1942 — Comissão de estudo da tristeza dos Citrus. Bol. 1. 7 pp. (mimeografado).
- ANÔNIMO — 1943 — Comissão de estudo da tristeza dos Citrus. Bol. 5. 2 pp. (mimeografado).
- ANÔNIMO — 1944 — Estudo estatístico da distribuição da tristeza. Com. est. tristeza dos Citrus. Bol. 12. 2-3 (mimeografado).
- ANÔNIMO — 1945 — Comissão de estudo da tristeza dos Citrus. Bol. 13. 7 pp. (mimeografado).
- BERTELLI, J. C. — 1944 — Notas fitopatológicas. Podredumbre de las raicillas de los citrus. *Lab. Fisiol. Patol. Veg. Dir. Agron. Min. Agr.* (Montevideu) n.º 71.
- BITANCOURT, A. A. — 1940 — A doença dos citrus no Vale do Paraíba. *O Biológico*, 6: 268.
- BITANCOURT, A. A. — 1941-1942 — A podridão das radículas dos citrus na província de Corrientes. *O Biológico*, 6: 285-288, 356-364; 7: 62-69.
- BITANCOURT, A. A. — 1943 — Levantamento da "Tristeza dos Citrus" no Estado de São Paulo, Comissão de estudo da tristeza dos Citrus. Bol. 8. 6 pp. (mimeografado).
- BITANCOURT, A. A. & H. S. FAWCETT — 1944 — Statistical studies of distribution of psorosis-affected trees in citrus orchards. *Phytopath*, 34: 358-375.
- BLISS, C. I. — 1938 — The determination of the dosage mortality curve from small numbers. *Quart. Jour. Pharm. and Pharmacol.*, 1: 192-216.
- BRIEGER, F. G. & S. MOREIRA — 1941 — Uniformidade da produção numa experiência de adubação da laranjeira baía. *Bragantia*, 1: 619-667.

- CARRERA, C. — 1935 — Informe de las observaciones y experimentaciones efectuadas sobre una nueva enfermedad aparecida en los Citrus de Bela Vista (Corrientes). *Bol. Min. Agric. de La Nacion*, 37: 15-37.
- COCHRAN, W. G. — 1936 — The statistical analysis of field counts of diseased plants. *Jour. Roy. Stat. Soc. (Supplement)*, 3: 49-67.
- MARCHIONATTO, J. B. — 1945 — La “podredumbre de la raicilla” del naranjo. *Min. Agr. de la Nación. Direc. Invest. Inst. Sanidad Vegetal. Bol.* 1 (serie A) 15 pp.
- MENEGHINI, M. — 1946 — Sobre a natureza e transmissibilidade da doença “tristeza” dos Citrus. *O Biológico*, 12: 285-287.
- MENEGHINI, M. — 1947 — Reação de amido nas enxertias de “seedlings” de laranjeira utilizadas em experiências de transmissão da “tristeza”. *O Biológico*. 13: 91-92.
- ZENTMYER, G. A., P. P. WALLACE & J. G. HORSFALL — 1944 — Distance as a dosage factor in the spread of dutch elm disease. *Phytopath.*, 34: 1025-1033.
-

VAGOTOMIA ALTA BILATERAL NA COBAIA

I - IMPORTÂNCIA DA IRRITABILIDADE DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL NA DURAÇÃO DA SOBREVIDA. (*)

POR

J. Pereira Junior

Do Instituto Biológico de S. Paulo

A dupla vagotomia executada nos animais de laboratório, desde a rã, RIENMÜLLER (1932) até os mamíferos usuais, e mesmo nas aves, CLAUDE BERNARD (1858) tem demonstrado sempre ser uma operação que leva os animais à morte num praso bastante rápido, de algumas horas para os pequenos animais a poucos dias para maiores, como o cão.

O mecanismo de morte dos pequenos animais de laboratório após dupla vagotomia tem ocupado periodicamente a atenção dos pesquisadores, sendo muitas as teorias propostas, sem contudo se chegar a uma interpretação satisfatória dos achados de autopsia.

Com efeito, na cobaia, rato, camondongo, cão, após a secção vagal, acontece em geral uma profunda alteração da amplitude respiratória, que se torna muito maior, e do ritmo, que se torna mais lento. Para a cobaia (e o rato) a sobrevida se estende normalmente a cerca de 5 horas para muitos animais, sendo raras as sobrevidas maiores e frequentes as mortes no prazo de 1 hora ou menos. A autopsia revela, ordinariamente, um estado congestivo do tecido pulmonar em que muitas vezes a cor deste órgão tanto se assemelha à cor e consistência do fígado, que LEGALLOIS aplicou a esta condição pulmonar o termo "hepatização"; CLAUDE BERNARD (1858) chamava-a de "carnificação".

Não vamos fazer uma análise detalhada da extensa bibliografia existente, já que este conhecimento póde ser adquirido através das excelentes discussões de CLAUDE BERNARD (1858) e principalmente as de GIUSTI e HOUSSAY (1919-a-b) e de M. OZORIO DE ALMEIDA (1919-1920-1922). Mais recentemente J. WEISER (1932) fez um bom apanhado do assunto, cingindo-se exclusivamente à literatura européia.

(*) Uma parte das conclusões deste trabalho foram apresentadas em nota, na sessão de 4-10-1946, da 1.ª Reunião Conjunta da Sociedade de Biologia do Brasil. - Apresentado à Reunião de 8 de Outubro de 1946 da Sociedade de Biologia de S. Paulo..

De um modo geral, póde-se agrupar os pesquisadores em duas classes quanto aos seus pontos de vista:

Uma em que as atividades mecânicas exageradas do torax, (após secção vagal), atuando intensamente sôbre o pulmão, acabariam por lesá-lo, levando-o a apresentar fenômenos congestivos ou edematosos que, piorando a hematose, ainda tornariam mais intenso o esforço respiratório sôbre o pulmão, e assim, num ciclo fechado, êsse quadro se agravaria progressivamente. Esta opinião foi aventada pela primeira vez por LEGALLOIS, citado por CLAUDE BERNARD (1858), ao estudar a secção dos nervos recorrentes e pneumogástricos e apoiada por CLAUDE BERNARD (1858), pela visão direta através do pleura parietal e medindo o volume respiratório, e reforçada mais recentemente por WEISER ao estudar alterações de permeabilidade pulmonar sob secção vagal.

Outra, em que a causa da morte estaria na irritação dos cotos nervosos produzida pelo fechamento de correntes elétricas entre estas extremidades e os líquidos do organismo (correntes de demarcação), como foi proposta por MICUEL OZORIO DE ALMEIDA (1920-1922) apoiado nas experiências de GAD — vide LUCIANI (1923); ou então na supressão de importantes funções respiratórias, circulatórias e digestivas, do nervo pneumogástrico em virtude da sua secção, como já era de consenso geral e apoiada por HOUSSAY e GIUSTI (1919-a-b); com as variantes de BOOTHBY e SHAMOFF (1915) — citados por ANREP e SAMAAAN (1932), que negam importância à secção dos filetes pulmonares do vago no cão, e de J. F. e C. HEYMANS (1928) que afirmam a importância da secção dos filetes cardio-aórticos na produção do retardo respiratório, usando sua preparação da cabeça isolada, ainda em cães.

Sentindo que essas idéias sòmente em parte explicavam os fatos observados, reunimos as diversas modalidades de experiências que realizámos em centenas de cobaias, desde fevereiro de 1944, em trabalhos de cujo material êste enfeixa uma parte, referente à ação da irritabilidade do sistema nervoso na gênese dos sintomas que condicionam a duração da sobrevida do animal vagotomizado.

PARTE EXPERIMENTAL

Foram utilizadas cobaias de ambos os sexos, de peso oscilando entre 150 gr e 750 gr.

Como anestésico foi usado quase sempre o éter etílico comercial, de boa procedência, sendo algumas cobaias operadas sob anestesia de éter purificado especial para anestesia. Outra série de cobaias foi operada sob mistura de álcool e éter na proporção de 2 partes do primeiro para 3 partes do segundo, e designada mistura A/E 2:3. A anestesia era iniciada numa câmara de vidro fechada, com capacidade de cerca de 3 litros, onde o animal respirava os vapores do anestésico, que embebia um pedaço de algodão.

Quando o animal se tornava flácido e caía, era rapidamente retirado e amarrado numa plancheta de operação, continuando a anestesia deste ponto em diante, por uma máscara cônica truncada, fechada por algodão com anestésico que recobria todo o focinho, (narinas e boca) do animal.

A abertura operatória no pescoço era em geral reduzida ao mínimo possível, (cerca de 1cm de comprimento) e a abertura dos planos aponevróticos e o isolamento dos vagos era feito com cuidado para que o traumatismo fosse o menor possível.

No momento em que era seccionado o segundo nervo vago, era retirada a máscara anestésica. Muitos animais já estavam acordados, em pé na gaiola cerca de 5 minutos após a secção.

O ato operatório durava cerca de 3 a 5 minutos.

A ferida era fechada só no plano cutâneo com 1 ou 2 agafes.

Todos os animais eram aquecidos após a operação por uma lâmpada elétrica especial para irradiar calor, ou durante toda a sobrevida, ou só por uma ou 2 horas.

INFLUENCIA DA ANESTESIA NA DURAÇÃO DA SOBREVIDA

A idéia lançada por LEGALLOIS e confirmada por CLAUDE BERNARD (1858) de que a secção do nervo laringêo inferior leva os animais jovens à morte por asfixia, devido à pouca consistência das cartilagens aritenoides (que então não poderiam manter a glote aberta no momento da inspiração), levou à idéia comum de que os animais jovens morrem após dupla vagotomia, em geral mais depressa do que os adultos, muito embora já CLAUDE BERNARD tivesse demonstrado que a asfixia não desempenha papel de relêvo no mecanismo da morte desses animais e como foi decisivamente provado pelas experiências de tranqueotomia de GIUSTI e HOUSSAY (1919) e M. OZORIO DE ALMEIDA (1919), que elegantemente conseguiu exteriorizar a traquéa, aberta sobre a pele, sem melhorar a sobrevida.

Para HOUSSAY e GIUSTI a sobrevida é variável mas é maior nos adultos do que nos animais jovens, achando estes autores que nos animais jovens o esgotamento muscular é mais rápido.

Tendo nós trabalhado com cobaias de pesos variados, pudémos verificar que o tamanho do animal é fator que não conta na duração da sobrevida, como se póde observar nos gráficos 1, 2 e 3 em que fica aparente que entre os vários níveis de peso, a incidência do momento da morte se dá aparentemente ao acaso.

Fica assim evidente a falta de correlação entre o peso (idade) e a duração de sobrevida.

Procurando verificar o mecanismo que regeria a duração da sobrevida passámos a examinar o papel que poderia ser desempenhado pela secção simultânea dos nervos depressores e simpáticos, tomando-se todo o cuidado na dissecção para que só o pneumogástrico fôsse seccionado; mas esta manobra não veio melhorar em nada a duração da sobrevida ou o quadro de morte.

Foi quando tivemos a nossa atenção chamada para a ação do éter, verificando-se em algumas partidas usadas uma ação letal da dupla vagotomia, de tal ordem que, em 24 cobaias operadas sob éter "Piquete", nenhuma conseguiu sobreviver mais que alguns minutos, não dando às vezes tempo para se colocar o agrafe na pele.

Impressionados com esta verificação, passámos a utilizar o éter purificado para anestesia, não notando nenhum aumento de sobrevida, sendo poucos os animais que ultrapassavam 5 horas, como se dava para o éter comercial bom.

Como a anestesia era iniciada em câmara fechada, procurámos verificar qual a importância desse passo na gênese dos fenômenos. Submetemos duas cobaias à ação da anestesia pelo éter na câmara, e quando elas caíram flácidas foram retiradas, e colocadas na gaiola, aquecidas por uma lâmpada. Não houve necessidade de respiração artificial. Uma delas, morta e autopsiada imediatamente, revelou largas áreas vermelhas, esparsas, de congestão e atelectasia pulmonar. A outra, que se deixou recuperar, 40 minutos após foi morta por uma pancada no occipital, revelando na autopsia lesões da mesma extensão e mais congestas.

Estes fatos confirmam as verificações de HOUSSAY e GIUSTI, que já acharam alterações pulmonares congestivas 3 a 5 minutos após vagotomia. E' de notar que êste segundo animal não apresentava

indício algum de dispnéa, e que CLAUDE BERNARD (1858) já duvidava da relação entre a lesão pulmonar e a sobrevida.

Procurando diminuir tanto quanto possível essa ação irritativa do éter, bem como evitar a queda de tonus neuro-muscular pela anestesia, empregámos dois sistemas: em um, substituímos a anestesia de éter só, pela mistura álcool-éter 2:3, que funcionava desde o início, na câmara de anestesia. Essa mudança não alterou sensivelmente o desenvolver dos fenômenos, como se verifica pela duração da sobrevida no gráfico 1.

Sobrevidas de cobaias após dupla vagotomia,
anestesia de éter e mistura A/E 2:3

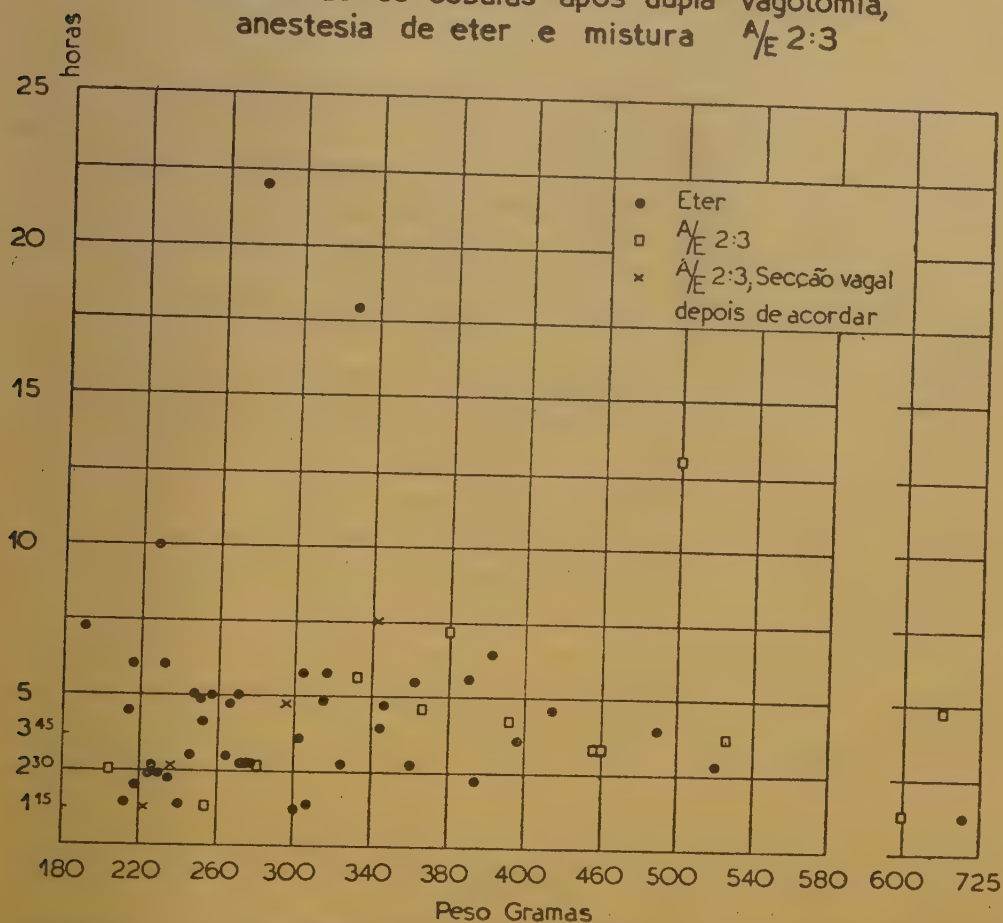


GRÁFICO 1 — A sobrevida em horas é projetada em abscissas, em relação ao peso, em ordenadas. Notar a independência de incidência dos pontos experimentais em relação à anestesia de éter, de mistura A/E 2:3, à secção após desvanecimento da anestesia, bem como ao peso (idade).

Em outro sistema, usando a mesma mistura anestésica, isolámos os dois pneumogástricos com a possível rapidez e o mínimo de traumatismo, enlaçámos cada nervo numa alça de fio de algodão,

coaptámos a pele com um agrafe, saindo da ferida os fios da alça. Os animais foram aquecidos e deixados a recuperar da anestesia e do acto cirurgico; e entre 40 minutos e 1 hora após, quando êles estavam normalmente espertos, nenhum exibindo respiração lenta ou dispnêa de tipo secção vagal, foram estes nervos puxados rapidamente até à ferida cutânea e então seccionados. Neste caso os fenómenos iniciais de irritação foram mais violentos do que na secção sob anestesia. O animal se mostrou mais inquieto; a expiração brusca era estridula, aguda, como um espirro; a agitação do animal se externava por pequenas corridas e às vezes sobressaltos. Este quadro tendia a se estabilizar, após alguns minutos, no quadro clássico da vagotomia, com respiração lenta, expiração brusca; depois de algum tempo o focinho do animal ia aparecendo molhado por líquido saído das narinas, ora claro, ora rosado, às vezes espumoso. Quanto à sobrevida, não se alterou para melhor em quatro cobaias, marcadas por (x) no gráfico 1, bem como em uma cujo protocolo é apresentado em seguida.

O uso da anestesia volátil, seja o éter só, seja a mistura álcool-éter, bem como a secção vagal após completa recuperação da anestesia e operação, não aumentam o prazo de sobrevida das cobaias, nem, por outro lado, vem interferir de qualquer modo no quadro congestivo pulmonar mais ou menos intenso encontrado na autopsia, nem permite uma incidência mais regular e previsível da morte nas cobaias vagotomizadas.

Para dar uma idéia do comportamento dos animais, seguem-se dois protocolos de experiência, resumidos, um de cada destes tipos.

SECÇÃO VAGAL SOB ANESTESIA DE MISTURA A/E 2:3.

Cobaia n.º 424, fêmea. Peso 250 gr. 30 de maio de 1944.

Anestesia pela mistura álcool-éter 2:3.

A anestesia se conservou superficial durante toda a operação, com alguns movimentos vivos do animal.

Secção vagal -11hs. -11h13', animal em pé, quiêto, com as fases dos movimentos respiratórios iguais, sem sinal de dispnêa: ligeiro tremor abala o corpo em certos períodos, ritmados. -11h25', forte dispnêa com espirros intensos e frequentes. -11h45', estado inalterado. 12h24', moribundo, caído de lado e apresentando sobressaltos fortes e frequentes. 12h45' — Morto.

— Sobrevida 1h25' — A autopsia revela hepatização maciça dos lobos pulmonares. Estomago fortemente distendido por gaz.

SECÇÃO VAGAL APÓS PERFEITA RECUPERAÇÃO DA ANESTESIA
E OPERAÇÃO

Cobaia n.º 432, fêmea. Peso 295 gr. 31 de maio de 1944.

Anestesia pela mistura álcool-éter 2:3.

10h25' — Durante a operação de isolamento e montagem dos vagos nos fios de linha a anestesia se manteve superficial, havendo muita reação do animal: saiu acordado da operação, mas exibindo uma tendência a ficar estático em posições não usuais (como si houvesse catatonia) durante muitos minutos.

11h02' — Secção vagal; animal vivaz. Não houve alteração nítida da duração das fases respiratórias.

11h10' — Dispneá leve. 12h00', perfeitamente sossegado, sem dispneá. 15h00, quiéto, sem dispneá. 16h00, encontrado morto. Sobrevida 4h58'.

A autopsia revelou, como de hábito, hepatização dos lobos pulmonares, sendo apenas poupada uma faixa marginal de 2-3mm, de aspecto enfisematoso, roseo-claro. Estômago distendido por gases, com uma área azulada de cerca de 3mm de diâmetro na parede anterior e cercada por um halo lívido nítido, marcando o lugar de hemorragia na mucosa.

O comportamento destes animais após à secção vagal não mostra diferença em relação aos animais com os vagos seccionados sob anestesia, a não ser pelo fáto de entrarem num período de agitação motora por vários minutos; mas é aparente (gráfico 1) que a secção vagal no animal acordado não aumenta a sua sobrevida, mas também não a diminue, o que permite afastar a perda de tonus pela anestesia como causa da morte.

Fica por outro lado evidente que a irritabilidade do sistema nervoso do animal já deve estar elevada pela vagotomia a alto nível, de tal modo que a secção vagal sem anestesia e as manipulações a ela ligadas não conseguem alterar a sua capacidade de sobrevida.

Este fáto poderá ser melhor apreciado nos parágrafos seguintes.

O quadro 1 resume os achados em relação à sobrevida das cobaias operadas sob éter e álcool-éter, divididas em classes de cinco horas de intervalo, por ser esse o prazo mais comum de sobrevida. A primeira classe de 5 horas foi desdobrada em 2 subclasses iguais de 2h30 de duração, para que se possa comparar a incidência de morte em função do tempo após vagotomia.

Chama logo a atenção a igualdade de porcentagem de duração de sobrevida nos dois quadros, mostrando outrossim que a maior incidência (cêrca de três quartos) se concentra nas sobrevidas até

QUADRO 1

Anestesia volatil e duração da sobrevida da cobaia após dupla vagotomia

Anestesia pela mistura álcool-éter 2:3

Total: 17 cobaias

Sobrevidas até:	2h30'	5h	Total até 5h	10h	15h	20h	25h
Incidência por classe	4	9	13	3	1	-	-
Por cento	23,5	52,9	76,4	17,6	5,9	-	-

QUADRO 2

Influência da atmosfera de CO₂ (Temporárias + Permanentes) e da atmosfera de CO₂ + sulfato de estricnina (Temporárias + Permanentes), na sobrevida das cobaias vagotomizadas.

Atmosfera de CO ₂							
(26 cobaias)							
Sobrevidas até:	2h30'	5h	Total até 5h	10h	15h	20h	25h
Incidência por classe	5	12	17	5	3	-	1
Por cento	19,3	46,1	65,4	19,2	11,5	-	3,8

Atmosfera de CO ₂ + estricnina.							
(25 cobaias)							
Sobrevidas até:	2h30'	5h	Total até 5h	10h	15h	20h	25h
Incidência por classe	9	7	16	7	1	1	-
Por cento	36,0	28,0	64,0	28,0	4,0	4,0	-

5 horas. Do total dos animais vagotomizados sob anestesia volatil, cêrca da quarta parte ou pouco menos não ultrapassa o prazo de 2h30', independentemente do sexo ou idade (peso); ultrapassando 5 horas de sobrevida, só se encontra cêrca de um quarto dos animais.

De todos os fatos descritos acima parece ressaltar que na co-baia vagotomizada a causa que leva o animal à morte começa a atuar desde o momento da operação, talvez mesmo desde o mo-mento da anestesia na câmara.

Sobrevidas de cobaias após dupla vagotomia sob varias doses de estricnina

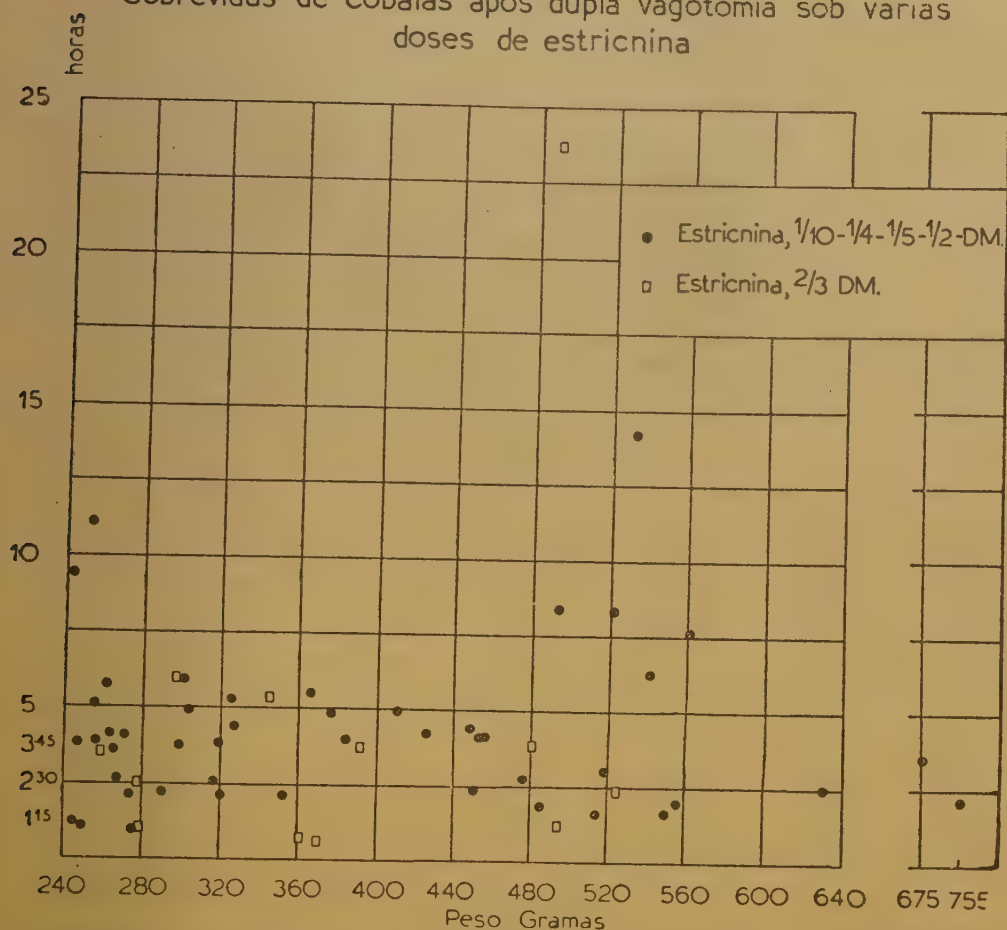


GRÁFICO 2 — A sobrevida em horas é projetada em abscissa em relação ao peso, em ordenadas. Notar como a idade dos animais e a estricnina não alteram visivelmente a duração da sobrevida, sob anestesia de éter.

TRAUMATISMO VAGAL E SOBREVIDA

Procurando verificar o papel da irritação do nervo sem mesmo seccioná-lo, tivemos a idéia de seccionar só os filetes cardíacos e pulmonares que a êle se juntam ou dêle saem no terço superior do

TABELA 1

RUPTURA BILATERAL DOS FILETES VAGAIIS CARDIO-PULMONARES AO NÍVEL DO TORAX, PELA VIA CEFALICA, NA COBAIA SOB ANESTESIA DE ÉTER.

N.º do animal	Peso gr	Sobrevida h.	OBSERVAÇÕES DE AUTOPSIA
92	677	> 4h	Vago direito partido no torax. Á autopsia havia hemotorax. Vago esquerdo completamente livre.
94	765	24h20'	Vago esquerdo rompido no torax. Vago direito livre na cavidade toraxica.
95	628	> 2h30'	2 vagos perfeitamente livres no torax. O vago direito estava rompido abaixo do hilo pulmonar.
96	495	4h10'	2 vagos rompidos abaixo do nível do coração.
99	500	> 2h00'	2 vagos livres no torax.
100	435	> 2h00'	2 vagos livres no torax.
101	450	> 1h30'	2 vagos livres no torax.
102	495	> 1h00'	Os dois nervos estavam rompidos abaixo do nível do hilo pulmonar.
107	460	> 2h00'	2 vagos livres no torax.
108	440	> 1h30'	2 vagos livres no torax.
109	406	> 1h30'	O vago esquerdo estava rompido abaixo do nível do coração. Vago esquerdo livre no torax.
110	423	> 8h00'	O vago direito estava rompido abaixo do nível do hilo pulmonar. Vago esquerdo livre no torax.
113	495	> 7h30'	O vago esquerdo estava rompido no torax. O vago direito estava livre.
114	409	6h25'	Os 2 nervos livres no torax.
115	495	> 7h00'	Os 2 nervos livres no torax.
117	321	2h35'	O vago esquerdo estava rompido abaixo do hilo pulmonar. Coágulos sanguíneos volumosos no hemitorax direito.
120	322	3h00'	O 2 nervos livres no torax.
121	250	5h35'	Os 2 nervos livres no torax.
126	250	3h55'	O vago esquerdo estava rompido ao nível do hilo. Vago direito livre.
129	273	> 7h00'	Os 2 nervos livres no torax.
134	245	4h20'	O vago direito estava rompido baixo no torax. Vago esquerdo livre.
136	230	> 7h00'	Os 2 nervos livres no torax.
147	275	5h00'	Os 2 nervos livres no torax.
155	205	> 8h00'	Os 2 nervos estavam rompidos no torax, abaixo do nível da base da coração.
156	207	> 7h30'	Vago esquerdo estava rompido abaixo do nível do coração. Vago direito estava livre no torax.

COBAIAS CONTROLES. Os dois vagos percorridos repetidamente pela pinça no pescoço, por cerca de 2 cm.

123	303	5h00'	—
133	280	Sobreviveu	Dispensada após 8 dias de comportamento normal.
139	235	> 7h45'	—

torax. Para isso fizemos a secção desses filetes nervosos usando o próprio pneumogástrico no pescoço como guia de uma pinça por nós especialmente adaptada, e feita a partir de uma pinça réta fina, com dente de rato, limando-se o dente mediano e afiando-se os bordos do círculo que se forma quando fechados os ramos. Um anel metálico, deslizável ao longo da pinça, bastava para mantê-la fechada.

A pele era amplamente aberta na linha mediana, por 2-3 cm no pescoço. Uma vez dissecado o nervo, era êle cuidadosamente montado sôbre a goteira de um ramo da pinça e o outro cuidadosamente fechado sem traumatizar o nervo por esmagamento. Êste era então levantado sôbre um bastão de vidro e, com o mínimo de esforço possível, era essa pinça deslocada ao longo dêste nervo. Ao penetrar no torax, logo sentia-se a resistência oposta pelos ramos nervosos que ganham o vago ou dêle saem, mas principalmente a resistência dos vasos dessa região. Em alguns casos, algum vaso calibroso era rompido, inutilizando-se a preparação. Uma vez libertada a pinça de um nervo, era a operação repetida no outro nervo.

Êste processo, mesmo sendo feito sem visão dirêta do campo operatório, mas antes guiado pela direção geral do vago e pelo tacto na pinça, permitiu-nos operar 20 cobaias de vários pesos e três controles. Estes controles foram operados em tudo como já foi descrito e a pinça, deslizada 3 a 4 vezes por cêrca de 1,5 a 2 cm, só na porção vagal localizada no pescoço, de ambos os lados. Não nos foi possível obter nessa ocasião (fevereiro de 1944) a hora da morte das cobaias quando isso se dava após as 18-19 horas: tomamos então a última hora em que o animal foi visto para se calcular o tempo de sobrevida, expresso então como sobrevida maior de ... horas, como se vê na tabela 1.

Apesar do cuidado posto na execução da experiência, em vários casos um dos vagos se rompia no torax ou às vezes os 2 nervos eram rompidos, não tanto pela força aplicada na pinça mas, talvez, por algum acotovelamento do nervo ao passar pelas estruturas bronquicas ou vasculares ao nível da base do coração. Ocasionalmente havia hemorragia numa das cavidades, achando-se, na autopsia, sangue coagulado; só uma vez foi verificado hemotorax bilateral.

Quando a pinça rompia um nervo antes de ter penetrado no torax, ou logo no início, o animal era afastado, bem como os em que

se verificava perda sensível de sangue do torax quando a pinça era retirada.

Na autopsia do animal, após abertura do torax, era a pinça novamente montada sobre o nervo no pescoço e então, sob as vistas, era ela deslizada e guiada pelo nervo vago, como na operação, chamando-se então de nervo livre no torax quando a pinça deslizava por ele até o nível do diafragma; ou então localizava-se o ponto de ruptura do nervo.

Em nenhum caso foi verificado qualquer indicio de pneumotorax, embora CLAUDE BERNARD insista muito nesse fato como ocasionado ou precedendo de perto os fenômenos congestivos pulmonares na vagotomia ao nível do pescoço.

Do exame da tabela n. 1 verifica-se que o traumatismo vagal pela pinça pôde matar o animal, como o mostram 2 dos 3 controles, mas com a secção dos filetes vagais pulmonares e cardíacos a morte sempre se dá, e apesar do maior traumatismo do nervo, num prazo comparável ao da secção vagal cuidadosa.

Portanto a irritação do nervo, aqui provavelmente máxima em intensidade e extensão, não altera sensivelmente a sobrevivência, relativamente à secção cirúrgica.

IMPORTANCIA DO NÍVEL DE IRRITABILIDADE DO SISTEMA NERVOSO

E' do conhecimento geral e HENDERSON e colaboradores (1936) chamaram a atenção para o fato, que o tonus muscular cai nitidamente após a anestesia e operação, havendo então a possibilidade de que a perda de tonus, particularmente para os músculos respiratórios pudesse contribuir para o aparecimento dos fenômenos pulmonares que se apresentam no animal vagotomizado, ou apenas profundamente anestesiado.

Já HOUSSAY e GIUSTI tinham observado que a cobaia vagotomizada tem o arcabouço toraxico aspirado na inspiração, o que dá medida da perda de tonus torácico e da predominância do diafragma nos movimentos respiratórios. Tentámos utilizar então a estricnina para elevar o tonus do sistema neuro-muscular, seja antes, seja depois da operação. Como é sabido, a cobaia suporta bem a estricnina, sendo a dose mortal de 3 a 3,4 mgr por quilo, segundo POULSSON (1920). Verificámos que as cobaias que tomavam uma dose mortal (1 D.M.) previamente à operação ou logo após, ao

acordar eram presas de tremor, sobressaltos frequentes, sobrevindo-lhes a morte em pouco tempo, com o torax fortemente expandido, em inspiração. Nas cobaias em que era injetada dose menor, o animal apresentava sinais de hiperexcitabilidade medular, cujo fenômeno mais claro era, frequentemente, ao colocar a pata posterior no sólo, levantava-a o animal, e bruscamente bater com ela, repetidamente, clonicamente, no chão.

Sobrevidas de cobaias após dupla vagotomia,
em 2 tempos e sob ação de estricnina

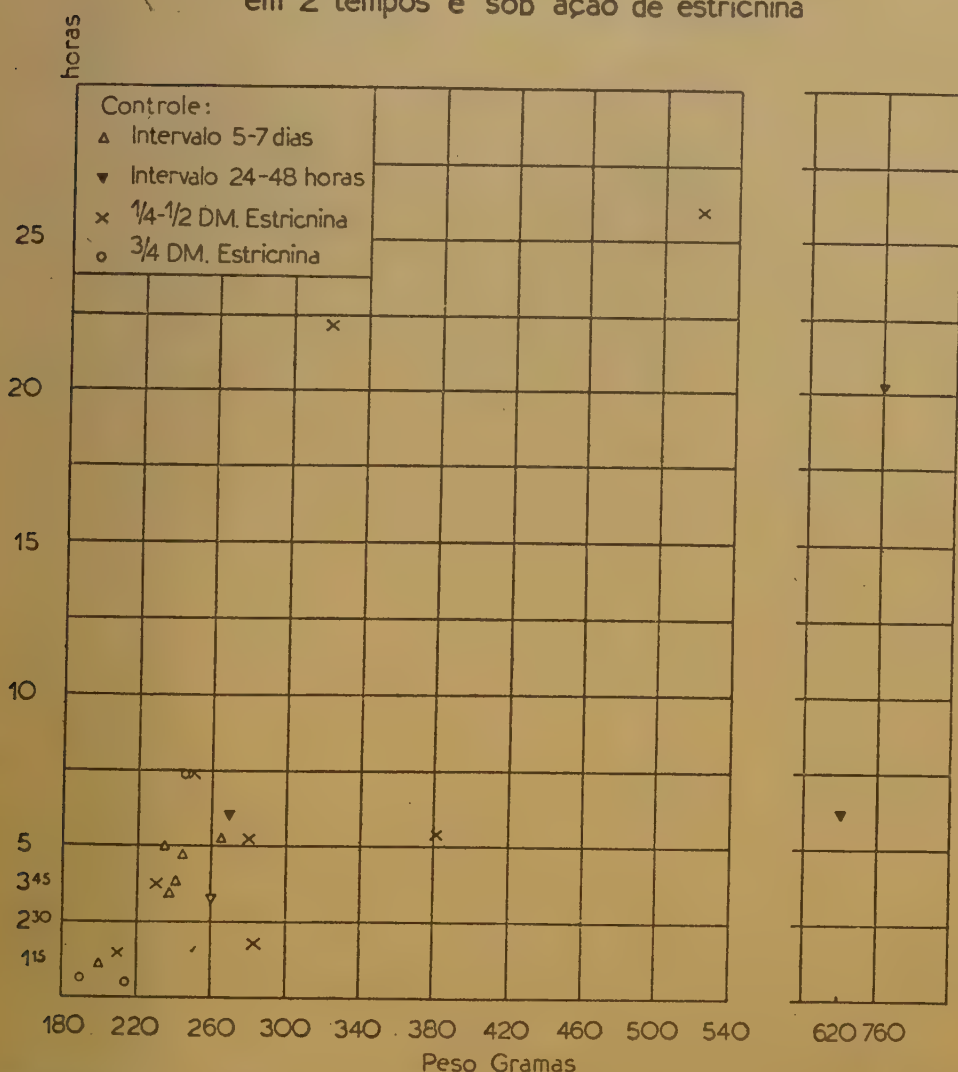


GRÁFICO 3 — A sobrevida em horas é projetada em abscissa em relação ao peso em ordenadas. Notar que a vagotomia em 2 tempos, ou ainda somada à ação da estricnina, não altera a incidência dos pontos experimentais, sobre o que mostra os gráficos 1 e 2.

As doses de estricnina foram variadas entre 1/10 D.M. até 1 D. M., devendo-se obter graus variados de excitabilidade do sistema nervoso; mas como se observa no gráfico 2, tabela e quadro 2, nenhuma diferença sensível foi obtida na duração da sobrevida pela ação deste alcaloide. Mas si atentarmos para o gráfico 4, onde as sobrevidas dos animais vagotomizados é comparada sob a ação do éter, mistura A/E 2:3, éter+estricnina, éter+CO₂, éter+CO₂+estricnina, ressalta que esse alcaloide exerce uma ação sensível na sobrevida, mas somente nas subclasses até 5 horas de duração. Aqui se verifica que a estricnina tende a diminuir a sobrevida, aumentando de uns 10% a incidência de casos até 2h30' de sobrevida; mas sua ação não parece ultrapassar 2h30', tanto que a 2.^a subclasse está desfalcada de igual valor, o que dá a quase igualdade dos valores por cento na classe de 5 horas, que é a soma destas duas subclasses.

O gráfico n. 2 mostra também não haver relação entre o peso (idade) e a duração da sobrevida, sob estricnina; e o esgotamento muscular, como foi pensado por HOUSSAY e GIUSTI, não parece apoiado por estes dados, pois tanto as cobaias grandes como as pequenas morrem em tempos variados, independentemente da dose de estricnina ou do peso do animal.

Mas da observação do comportamento dos animais operados sob as várias circunstâncias e principalmente sob estricnina, ressalta que o papel de excitabilidade do sistema nervoso central, e principalmente do centro respiratório, produzindo respiração mais ou menos ampla, levaria o animal a eliminar com rapidez variável o gaz carbonico alveolar, podendo deste modo interferir no CO₂ plasmático.

Baseado no papel que a hiperventilação ao ar ambiente também exerce no tonus muscular, baixando-o nitidamente, como verificado por HENDERSON e col. (1936) para o homem, fizemos tentativas de manutenção de animais em atmósferas com várias concentrações de gaz carbonico, sem levar em conta nem a umidade, nem a temperatura, nesse ambiente limitado.

Para verificar este ponto realizámos uma série de experiências em cobaias, em que após a vagotomia os animais eram mantidos, uns, por prazo de 20-30 minutos, e outros permanentemente numa atmosfera fechada com cerca de 1% a cerca de 5% de CO₂, em ar

TABELA 2

Sobrevida das cobaias vagotomizadas, em atmosferas enriquecidas de CO₂ (1% a 5%). Ação de 1/2 D.M. de sulfato de estricnina.

PERMANÊNCIA TEMPORÁRIA (20-30') NA ATMOSFERA DE CO₂

N.º do animal	Peso gr	Taxa de CO ₂	Sobre-vida (horas)	N.º do animal	Peso gr	Taxa de CO ₂	Estricnina	Sobre-vida (horas)
276	265	5%	2,30'	278	220	5%	1/2 D.M.	2,00'
287	230	5%	3,30'	291	250	5%	1/2 D.M.	8,35'
288	225	5%	9,05'	292	270	5%	1/2 D.M.	4,00'
301	230	2%	2,35'	305	245	2%	1/2 D.M.	5,20'
302	250	2%	4,07'	306	250	2%	1/2 D.M.	3,35'
311	240	1%	2,40'	315	260	1%	1/2 D.M.	3,00'
312	250	1%	3,00'	316	245	1%	1/2 D.M.	2,25'
				317	240	1%	1/2 D.M.	2,33'

SOBREVIDA PERMANENTE NA ATMOSFERA DE CO₂

277	215	5%	5,00'	279	240	5%	1/2 D.M.	1,00'
289	230	5%	12,52'	293	250	5%	1/2 D.M.	5,54'
290	210	5%	2,00'	294	255	5%	1/2 D.M.	12,10'
295	260	2,5%	3,30'	298	215	2,5%	1/2 D.M.	6,15'
296	250	2,5%	3,25'	299	255	2,5%	1/2 D.M.	6,13'
297	235	2,5%	3,20'	300	225	2,5%	1/2 D.M.	6,05'
303	280	2%	3,00'	307	220	2%	1/2 D.M.	2,20'
304	225	2%	2,20'	309	215	2%	1/2 D.M.	2,20'
313	230	1%	43'	318	240	1%	1/2 D.M.	16,10'
314	235	1%	4,50'	319	275	1%	1/2 D.M.	2,50'
321	245	5%	2,10'	320	235	1%	1/2 D.M.	2,05'
322	300	5%	7,45'	323	240	5%	1/2 D.M.	1,30'
326	265	1%	21,45'	324	260	5%	1/2 D.M.	2,50'
328	235	1%	9,23'	325	260	5%	1/2 D.M.	1,06'
331	260	1%	9,17'	327	215	1%	1/2 D.M.	1,40'
354	351	1%	7,15'	329	235	1%	1/2 D.M.	9,02'
355	306	1%	12,06'	332	250	1%	1/2 D.M.	3,50'
356	255	1%	13,00'					
357	325	1%	3,13'					

atmosférico, reforçada, em alguns, pela ação de 1/2 D.M. de estri-
cnicina, como se vê na tabela 2, quadro 2 e gráfico 4.

Comparação da sobrevida por cento das
cobaias sob dupla vagotomia sob
anestesia volátil

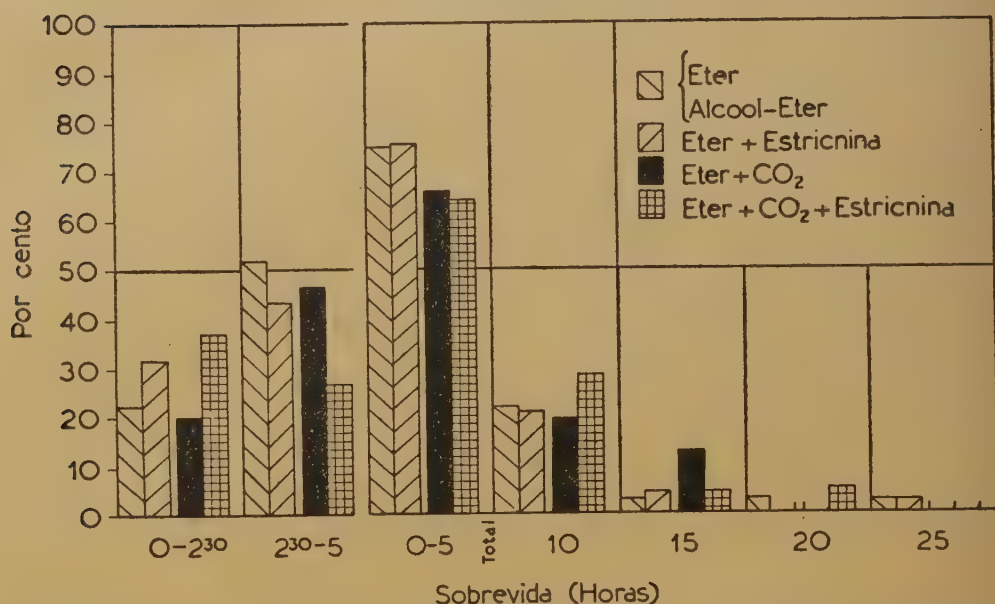


GRAFICO 4 — Distribuição da sobrevida em classes de 5 horas de intervalo: a primeira classe é dividida em 2 subclasses de 2h30' de duração. As sobrevidas obtidas sob éter e mistura A/E 2:3, sob éter mais estricnina; sob várias atmosferas de CO₂ ou destas ainda somadas à ação da estricnina, são projetadas em abscissa como porcentagem de sobrevivência para o total de animais em cada tipo de experiência, em relação ao tempo em ordenadas. Notar a ação da estricnina diminuindo a sobrevida, tanto em ar ambiente, quanto sob atmosferas de gaz carbônico, sobrecarregando a 1.^a subclasse, até 2h30'. Verificar a ação das atmosferas de CO₂ prolongando as sobrevidas, pela diminuição da porcentagem de mortes até 5 horas, e distribuindo-as pelas classes de 10, 15 e 20 horas.

De início a atmosfera não era renovada, mas logo passámos a usar um gazometro de Tissot contendo a mistura de ar e CO₂, que se escoava lentamente para as cubas de vidro com cerca de 20 e 30 litros de capacidade, frouxamente tapadas, onde ficavam os animais após vagotomia.

Os dados apresentados na tabela 2 são resumidos no quadro 2 e gráfico 4, aqui, agrupados em classes de 5 horas de intervalo, sendo a 1.^a classe também dividida em 2 subclasses para facilidade de comparação da sobrevida em atmosferas variáveis de CO₂ e em atmosfera de CO₂ superajuntada à ação de 1/2 D.M. de estricnina.

Comparando-se as duas metades da tabela 2 e do quadro 2 verifica-se que as sobrevidas sob CO_2 e sob CO_2 mais estriçnina não melhoram sinão de uns 10% na classe de 5 horas sôbre o que já se tinha obtido prèviamente, com os animais em ar ambiente; mas a distribuição por classes de 5 horas de sobrevida permite comparar a incidência em número e porcentagem de sobrevidas por classes, com as que já tinham sido obtidas sob éter (quadro 1 e gráfico 4). E dessa comparação ressalta que:

1.º) — A ação das atmosfêras de CO_2 evidencia-se pelo efeito geral de diminuir, em cêrca de 10%, a incidência de morte até 5 horas, com ou sem estriçnina, beneficiando-se as classes de 10 e 15 horas com os sobreviventes.

2.º) — A ação de estriçnina se torna nítida sòmente na classe de sobrevidas até 5 horas; mas aí a sua ação se manifesta por um encurtamento da sobrevivência das cobaias, de tal maneira que a subclasse até 2h30' de sobrevida têm praticamente dobrados os seus casos, enquanto a segunda subclasse tem a sua porcentagem diminuída de quase metade.

Isso permite mostrar que a ação da estriçnina se faz intensamente no período desta classe até 2 horas e 30' e os animais que conseguirem escapar à sua ação inicial só podem beneficiar-se com a atmosfera de CO_2 .

Êste tipo de experiência foi ampliado e será descrito em outra publicação, em que as condições de anestesia, de ventilação e umidade da atmosfera gasosa foram mantidas mais estáveis.

Procurando dar um intervalo entre a secção de um pneumogástrio e o segundo, verificámos em algumas cobaias que a secção de segundo nervo, ao contrário do que havia sido visto por TOURNADE (1913) para o rato, não aumenta a sobrevida, confirmando-se GIUSTI e HOUSSAY (1919-a); e que a estriçnina não altera também o seu modo de ação na vagotomia em 2 tempos com intervalos até 7 dias, como se vê no gráfico 3.

DISCUSSÃO

As experiências em que usámos a estriçnina e as atmosferas ricas de CO_2 nos animais vagotomizados parecem-nos muito ilustrativas por abrir uma perspectiva diferente para explicar a duração variável de sua sobrevida, podendo-se afastar a idade e o esgota-

mento muscular como fatores de morte dos animais e apontando-se a irritabilidade do sistema nervoso como causa primária do mecanismo de morte, ocasionando possivelmente a perda mais ou menos rápida do gaz carbônico do ar alveolar.

Mas já em 1920 M. OZORIO DE ALMEIDA tinha entrevisto o papel da irritabilidade nervosa na gênese das perturbações que aparecem após a dupla vagotomia na cobaia, porém cingiu-se na época ao fator de possível irritação dos cotos seccionados do pneumogástrico, que, em contacto com os líquidos do organismo, fechariam correntes que os percorreriam continuamente. Esta concepção estava baseada no fato de que a simples dissecação do nervo, sem cuidado, mas sem secção anatômica, é capaz de levar o animal à morte com o quadro contraditório na secção vagal, mas o seu apóio principal estava no fato de que o simples envolvimento do nervo em uma goteira de borracha, com algodão embebido em solução de novocaína a 1-2%, ou mesmo 10% (secção fisiológica do nervo), é capaz de provocar a morte da cobaia em número de horas nitidamente maior do que o dos animais com secção operatória dos vagos. Assim, por meio da secção fisiológica, sem irritação do nervo, o animal teria a sobrevivência tanto mais prolongada, quanto mais o anestésico aí permanecesse em contacto. Naturalmente, com o passar do tempo a novocaína iria sendo absorvida, diluída ou destruída, deixando o nervo sujeito à ação irritativa da goteira de algodão que o envolvia. Daí por diante os fenômenos que o animal apresentasse seriam fenômenos de irritação do nervo, como os que se apresentam após secção operatória, ou mesmo por sua dissecação pouco cuidadosa.

Este mecanismo de irritação dos cotos vagais passou a ser mais patenteado quando E. BECCARI (1933) mostrou (para o cão vagotomizado), que as excitações vagais periféricas produzem alterações respiratórias independentes de ação circulatória, trazendo assim confirmação, embora aparentemente sem conhecê-las, às experiências de Doyon (1893) que observou efeitos respiratórios não ligados à isquemia bulbar, pela estimulação do coto vagal periferico, também no cão.

M. OZORIO DE ALMEIDA verificou ainda que, sob anestesia profunda e duradoura pelo cloral, afastados os casos de intoxicação anestésica, prolonga-se de muito a sobrevivência das cobaias.

Mas a secção fisiológica dos vagos pela novocaína, mesmo a 10%, (M. OZORIO DE ALMEIDA — 1922), conquanto aumente a sobre-

vida nitidamente em relação à secção cirurgica, nas cobaias controles, porém só com o nervo envolvido pela goteira com algodão embebido em soro fisiológico, não têm uma sobrevida muito diferente, sugerindo que além da irritação dos segmentos do nervo, outros fatores devem intervir.

As nossas experiências de traumatismo vagal para ruptura dos filetes vagais cardio-pulmonares, onde os fenômenos irritativos são intensos e amplos, nem por isso conseguem impedir sobrevidas bem além de 5 horas, ou, mesmo, de 24 horas. No mesmo sentido depõem as secções na cobaia já acordada.

HOUSSAY e GIUSTI insistem, ao contrário, na teoria mecânica, procurando explicar os fenômenos pulmonares de congestão e atelectasia, e com isso a sobrevida, pelo esforço que a respiração aumentada em amplitude exerceria sobre este órgão, bem como responsabilizando este esforço para explicar o esgotamento muscular intenso, principalmente no terço final da sobrevida. Os vagos teriam assim uma ação "excepcionalmente predominante" na regulação respiratória.

Mas a tentativa de substituir os impulsos centripetos que deveriam percorrer os vagos seccionados, por excitação faradica, resultaram em insucesso.

Contudo esses autores conseguiram mostrar que, alongando-se a traquéa e seu espaço morto respiratório por meio de um tubo de borracha que se prolonga até o dorso, isso causava a morte do animal, exibindo ele esforço respiratório aumentado.

E' conveniente lembrar aqui as experiências em que a morte das cobaias se dá com o mesmo quadro respiratório e de lesão pulmonar sem que se interfira no funcionamento vagal, como foi observado por LÖWIT, citado por OZORIO DE ALMEIDA (1920) e GIUSTI e HOUSSAY (1919-a-b) nas suas experiências de anafilaxia, em que a simples contenção da cobaia na mesa operatória era suficiente para levá-la à morte, o que foi confirmado por HOUSSAY e GIUSTI. MIGUEL OZORIO DE ALMEIDA verificou também que a hiperpnéia produzida na cobaia normal pelas atmosferas ricas de CO_2 levavam-na à morte em prazo variável e com o mesmo quadro pulmonar. Estas experiências chamam a atenção para a facilidade com que o quadro de congestão e atelectasia pulmonar se processam na cobaia — lesão banal como bem disse M. OZORIO DE ALMEIDA — e que por si não explica a morte; mas todas estas verificações levam a pensar no

papel da irritabilidade do sistema nervoso e, por isso, do centro respiratório, que atuando sobre o equilíbrio dos gases pulmonares, interfere no equilíbrio dos gases sanguíneos. Este desequilíbrio pode ser acelerado pela estriknina e retardado por uma atmosfera de CO_2 , muito embora o anestésico usado, o éter, já traga o centro respiratório excitado intensamente (ANREP e SAMAAH — 1932).

O grau de excitabilidade do sistema nervoso, variável de cobaia para cobaia, independente da idade e sexo, já elevada pela anestesia de éter, pode ainda ser aumentada pela estriknina, com diminuição da sobrevida; e esta situação compensada pelas atmosferas enriquecidas de CO_2 .

Estes fatos vêm dar agora uma unidade de interpretação aos resultados obtidos por LÖWIT com as cobaias operadas e mantidas amarradas à mesa operatória, como às experiências de HOUSSAY e GIUSTI com as cobaias presas em grau variável de estiramento, mesmo sem operar, mas que morriam rapidamente com o quadro pulmonar clássico e às experiências de M. OZÓRIO DE ALMEIDA com anestesia geral continua, em que todas apontavam para este fator, mas que tinham sido diferentemente interpretadas.

RESUMO E CONCLUSÕES

Em cobaias de idades variáveis foi executada a dupla vagotomia, seja em uma sessão operatória ou em duas, com intervalo variável de 24 horas e 7 dias; também foi produzido o rompimento somente dos filetes cardio-pulmonares vagais, todas sob anestesia de éter, álcool-éter; bem como seccionados os vagos sob a ação de doses variáveis de estriknina, e em atmosferas variadas de gás carbônico; como a secção executada em animais já despertos da anestesia, e estas observações nos conduziram às seguintes conclusões:

- 1.º) — A sobrevida destas cobaias é independente da idade ou sexo.
- 2.º) — Sua sobrevida é independente da intensidade da irritação mecânica dos troncos vagais.
- 3.º) — A sobrevida das cobaias vagotomizadas não depende do esgotamento muscular.
- 4.º) — O nível de tonus neuro-muscular, não desempenha papel aparente na duração da sobrevida da cobaia vagotomizada.

- 5.º) — A duração da sobrevida está, aparentemente, ligada ao grau de excitabilidade do sistema nervoso.
- 6.º) — Apesar da anestesia pelo éter elevar grandemente a excitabilidade do sistema nervoso central, a estricnina ainda consegue reduzir a sobrevida nas primeiras 5 horas de sobrevida, seguintes à secção vagal.
- 7.º) — Uma atmosfera de gaz carbônico consegue contrabalançar, em parte, o efeito do éter e da estricnina, após dupla vagotomia, dilatando a sobrevida.

DOUBLE VAGOTOMY HIGH IN THE NECK IN THE GUINEA-PIG.
I — ROLE OF THE IRRITABILITY OF THE CENTRAL NERVOUS
SYSTEM IN THE SURVIVAL LENGTH.

A b s t r a c t

After double vagotomy under ether or alcool-ether 2:3, a series of respiratory phenomena sets in and in a matter of about five hours, the guinea pig dies having exhibited a peculiar form of slow respiration, with a progressive congestion and atelectasia or emphysema.

A number of explanations have been advanced since the half of the last century and in this paper due consideration is granted to the mechanical theory of Houssay and Giusti and to the irritative theory of M. Ozorio de Almeida.

By using guinea-pigs of different ages, we have not been able to substantiate the old assertion that, the least is the life span, the younger the animal, as evidenced in graphics 1 and 2.

To test the significance of vagus nerve irritation we tried to cut the cardiac and pulmonary branches of the vagus, by adapting around the nerve in the neck, the sharpened edges of the hollow branches of a specially adapted, straight, thin, anatomic forceps, and by carefully sliding down this device, guided by the main vagus trunk, lightly stretched over a glass rod, we could "free" the vagus of all its thoracic branches far down to the diaphragmatic level (table 1) Even this manipulation, with the implication of the most intensive and extensive irritation of the vagus nerve, the survival length of the animals don't show any difference as compared to the vagotomized ones. The control animals, with the nerves only manipulated in the neck, either die or survive, pointing to the fact that the sole irritation of nerve stumps is not responsible for the

death. In fact, the vagus section after the animal is fully awakened, from an alcool-ether anesthetic mixture, (graph 1), shows the operative outliving to be of the same magnitude as previously known.

To check the possibility of the depression of neuro-muscular tonus by anesthesia and operation, various doses of strychnine sulphate, from 1/10 L.D., to 2/3 L.D. and even 1 L.D. have been used (Graph 2 and 4), in one or in two operative seats (Graph 3), and the conclusion presents itself that the possible diminution of neuro-muscular tonus cannot contribute to the variable outliving of animals of different weights. But this alcaloid can apparently enhance a little more the heightened excitability of the nervous system after vagotomy, even in low dosage; for notwithstanding the animal being not much more active, does not seem to breathe more, or more actively, even so it dies in a shorter length of time than if strychnine was not used. But a remark must be made by comparing the data in "quadro" 1 and graph 4, where the survival length is discriminated by 5 hours classes and the first one, divided in two subclasses of two and half hours each. Here we see that the slight action that strychnine can exert is to shorten the lives of the animals that would otherwise die in the second half class. In the class 0-5 hours, total of the two sub-classes, the percent of animals is the same, as under ether or alcool-ether only. This gives a good measure of the heightened excitability of the nervous system after vagotomy.

These observations have led us to the use of atmospheres with concentrations of CO_2 from about 1% to about 5%, in air and here again the use of strychnine (table 2 - Graph 4) shows that the permanence of the animal in an atmosphere enriched with CO_2 , under strychnine or not, favors the lenghtening of its survival, by diminishing the percent of animals whose survival falls in the class of five hours. But here again, a remark must be made by inspecting the survival in the two initial subclasses, for the only use of CO_2 enriched atmosphere definitely enhances the percentage of animals that die between 2 1/2 and 5h; but the use of strychnine with these atmospheres shows that this alcaloid reinforces the percentage of animals whose survival falls in the first half-class, in detriment of the incidence in the second half-class. But this action of strychnine does not stand because after the five hours survival class, the outliving percentage is conditioned by the atmosphere of CO_2 and not by the alcaloid.

The more lengthy survival in CO₂ enriched atmospheres and the hindrance that strychnine seems to be, points to the rôle that the excitability of the nervous system, already heightened by the double vagotomy, plays in the duration of post-operative survival, and explains the mechanism of death of guinea pigs merely stretched over an operative table (Löwit) or the hyperpnea induced in this animal by standing temporarily in an atmosphere enriched with CO₂, as seen by Löwit and M. Ozorio de Almeida, without vagus section.

BIBLIOGRAFIA

- ANREP, G. V. e ADLI SAMAAN — 1932 — Double vagotomy in relation to respiration. *J. Physiol.*, 77: 1-15.
- HEYMANS, J. F. e C. HEYMANS — 1928 — Sur le mécanisme du tonus respiratoire vagal. *C. r. Soc. Biol.*, 99: 633-635.
- HENDERSON, Y., A. W. OUGHTERSON, L. A. GREENBERG e C. P. SEARLE — 1936 — Muscle tonus, intramuscular pressure and the venopressor mechanism. *Amer. J. Physiol.* 114: 261-268.
- BECCARI, E. — 1933 — Über die durch Reizung des peripherischen Vagusstumpfes hervorgerufenen Atemerscheinungen. *Pflüger's Arch.*, 231: 577-587.
- BERNARD, C. — 1858 — Leçons sur la Physiologie et la Pathologie du Système Nerveux. Paris. J. B. Baillière et Fils.
- DOYON, M. — 1893 — Contribution à l'étude des effets circulatoires et respiratoires des excitations centrifuges du nerf vague. *Arch. de Physiol. Norm. et Path.*, 5s., 5: 93-102.
- GIUSTI, L. e B. A. HOUSSAY — 1919a — La vagotomie bilatérale chez les cobayes et les rats. *Jour. de Physiol. et de Pathol. Gén.*, 18: 244-259.
- GIUSTI, L. e B. A. HOUSSAY — 1919b — La vagotomia bilateral en los cobayos. *Rev. A. Med. Argent.*, 30: 165-177.
- LUCIANI, L. — 1923 — *Fisiologia dell'Uomo*. 1.º : 480 e seg. Soc. Edit. Libreria — Milano.
- OZORIO DE ALMEIDA, M. — 1919 — Sobre o papel de paralyssia do larynge no mecanismo da morte das cobaias vagotomizadas. *Brazil-Médico*, 33 (52): 411-412.
- OZORIO DE ALMEIDA, M. — 1920 — Sobre a morte da cobaia consecutiva à dupla vagotomia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 12: 5-17.
- OZORIO DE ALMEIDA, M. — 1922 — Sobre a vagotomia bilateral das cobayas. *Brazil-Médico*, 36: 105-109.
- POULSSON — 1920 — Strychnin, "in" A. Heffter — *Handbuch der experimentellen Pharmakologie*, (1): 381, 1920.
- RIENMÜLLER, J. — 1932 — Beobachtungen über die Wirkung des konstanten Stromes auf das Herz von Frosch und Salamander. *Pflüger's Arch.*, 230: 782-791.
- TOURNADE, A. — 1913 — Sur les délais de régénération du vague chez le rat blanc. *C. r. Soc. Biol.*, 74: 956-957.
- WEISER, J. — 1932 — Zur Frage der sog. Vaguspneumonie. *Pflüger's Arch.*, 231: 68-76.

PAPEL DA PREDISPOSIÇÃO DO HOSPEDEIRO NA PRODUÇÃO DA HABRONEMOSE CUTÂNEA ("ESPONJA") DOS EQUÍDEOS

POR

C. Pereira & M. J. de Mello

Do Instituto Biológico de S. Paulo

Com a estampa 14

INTRODUÇÃO

O problema da etiologia da "esponja" tem passado por uma série de vicissitudes em virtude da variedade dos fatores que concorrem na determinação do fenômeno.

A fase do seu estudo experimental, após as tentativas infrutíferas da transmissão de animal a animal por HART (1872, 1873, *apud* FISH, 1897) e SMITH (1879, *apud* FISH, (1897)), foi iniciada com o trabalho de LINGARD (1905, *apud* RAILLIET *in* DESCAZEUX, 1915), que obteve os "kunkurs" do "bursati" indú pela picada de um alfinete abaixo da comissura interna do olho de uma mula, que estava exposta a grande quantidade de moscas. Trabalhando no Congo Belga, VAN SACEGHEM (1917) demonstra que as larvas de *Habronema muscae* (CARTER), provenientes de moscas, não perfuram a pele intacta do animal, e que é possível obter-se a habronemose cutânea (1918) fazendo-se simplesmente um ferimento no cavalo e expondo-o a moscas infectadas, o que contrasta com a cicatrização normal de um outro ferimento, que fora protegido do contacto com esses insectos; o mesmo autor reproduziu ainda uma doença semelhante, a conjuntivite granulosa, por meio das larvas extraídas de moscas infectadas e depositadas diretamente no canto do olho de um cavalo. DESCAZEUX (*in* ROUBAUD & DESCAZEUX, 1921) refere a obtenção de um esboço de esponja pela aplicação de 50 larvas de *Draschia megastoma* (RUD.) num ferimento de um cavalo, que cicatrizou ao fim de doze dias; experiência semelhante, apenas com 10 larvas de *H. muscae*, em outro animal, deu resultados completamente negativos. O mesmo autor (*in* ROUBAUD & DESCAZEUX, 1922 *b*) obtem esponja típica expondo o ferimento de um cavalo a moscas infectadas com *D. megastoma*, durante quatro dias, à razão de cerca de 50 larvas do helminto por dia; chegou a resultados semelhantes,

mas não tão acentuados, em outro cavalo, que nas mesmas condições de experiência, esteve exposto a moscas infectadas com *H. muscae*. Esses resultados são confirmados por HILL (1918), admitindo BULL (1919) a mesma possibilidade de comportamento para as larvas de *H. microstoma* (SCHNEIDER).

Tais fatos vinham justificar a semelhança notada por ERCOLANI (1859, *apud* RAILLIET *in* DESCAZEUX, 1915), entre o parasita que encontrara numa ferida de verão e a então *Spiroptera megastoma* RUD., do estomago dos equideos, e reforçar a hipótese de RAILLIET (*in* DROUIN, 1902), de que os helmintos encontrados nas lesões de esponja por RIVOLTA (1868, *apud* RAILLIET *in* DESCAZEUX, 1915), (1884, *apud* STILES & HASSALL, 1920) e por LAULANIÉ (1884 *a b*) pudessem ser larvas de alguns dos helmintos adultos que parasitam esses mesmos animais. CÉSARI & ALLEAUX citam no relatório apresentado por MARTEL (1909, *apud* CÉSARI, 1923) a opinião de RAILLIET & HENRY sobre os nematoides por eles encontrados em nodulos dos pulmões de equideos, de que deviam ser larvas das espiropteras parasitas do estomago desses hospedeiros; esta suposição foi confirmada em outro material por RAILLIET (*in* DESCAZEUX, 1915), ao discutir a posição sistematica dos parasitas da esponja encontrados no Brasil por DESCAZEUX no ano de 1912, quando reconheceu que eram muito semelhantes às larvas infectantes do *Habronema muscae*, estudadas pouco antes por RANSOM (1913), e pertencentes portanto a alguma das espécies do gênero *Habronema* DIES., cujos adultos vivem no estomago dos equideos. RAILLIET & HENRY (1915) cunharam para as “plaies d’été” a denominação “habronemose cutânea”, abordando RAILLIET (1923) o problema no seu conjunto, do ponto de vista parasitológico.

O ciclo vital do *H. muscae*, nos seus entrelaçamentos com moscas e equideos, já entrevisto claramente por PLACE (1908, *apud* SEN, 1927) em suas linhas gerais, ficou esclarecido pelos trabalhos de RANSOM (1911, 1913), VAN SACEGHEM (1917, 1918), HILL (1918), JOHNSTON & BANCROFT (1920) e ROUBAUD & DESCAZEUX (1922 *a b*). O ciclo do *H. microstoma* foi investigado por HILL (1918), BULL (1919) e ROUBAUD & DESCAZEUX (1922 *a*), e o da *D. megastoma* por HILL (1918), BULL (1919) e ROUBAUD & DESCAZEUX (1921, 1922 *b*).

No referente às condições que regem o fenômeno são unânimes os autores, desde a observação inicial de KERR (1829, *apud* FISH, 1897) na India, que a atribuía principalmente ao mau trato dos

animais, em assinalar o papel preponderante desempenhado pelo tempo quente e humido, com abundancia de moscas, no aparecimento das esponjas. Houve mesmo quem chegasse a admitir que a doença fosse provocada pela temperatura ambiente elevada, por si ou modificando o caráter de qualquer ferida preexistente, como BOULEY (1850), HOGSDON (1853, *apud* FISH, 1897), HART (1872, 1873, *apud* FISH, 1897), que a comparou à ulcera de Delhi, COLLINS (1874, *apud* FISH, 1897), MARX (1876, *apud* FISH, 1897), KNOTT (1877, *apud* FISH, 1897), MEYRICK (1878, *apud* FISH, 1897), e, particularmente, NUNN (1896, *apud* FISH, 1897), que julgou ter notado uma relação entre o nível das precipitações atmosféricas e a quantidade de esponjas nos equinos em duas estações sucessivas.

Posteriormente a RAILLIET (*in* DESCAZEUX, 1915) haver admitido que os equideos poderiam se contaminar diretamente, através da pele, conseguiu-se compreender o papel desempenhado pelo calor quando, em virtude das pesquisas de RANSOM (1913), ficou demonstrado que parte do ciclo vital do *H. muscae* passa-se obrigatoriamente no organismo da mosca doméstica; este fato levou RAILLIET & HENRY (1915) a aventarem a hipótese de serem tais insectos os veiculadores das larvas infectantes do helminto. Baseando-se na epidemiologia da doença, mostrou VAN SACEGHEM (1917) que era improvável originarem-se as esponjas por contaminação fecal direta e, ainda, que as larvas do helminto contidas nas moscas eram incapazes de perfurar a pele intacta do animal; portanto deviam ser depositadas em ferimentos já existentes, cujo estado passariam a agravar, como foi confirmado pouco depois por VAN SACEGHEM (1918). Além destes pesquisadores, e dos já citados a propósito da obtenção da esponja experimental, contribuíram ainda para o esclarecimento das relações entre os helmintos e as moscas TORRES (1925 *a b*), TORRES, FONSECA & LEÃO (1923 *c*), CRAWFORD (1926), DESCAZEUX & MOREL (1933 *b*), MOREL (1934), PIRES (1939), MELLO & CUOCOLO (1943 *a b*) e MELLO & PEREIRA (1946).

O comportamento no hospedeiro definitivo das larvas infectantes dos habronemas foi investigado ainda por MEYRICK (1878, *apud* FISH, 1897), NOCARD (1901), LIÉNAUX (1902, *apud* CÉSARI & ALLEAUX *in* CÉSARI, 1923), CADÉAC (1902, *apud* RAILLIET *in* DESCAZEUX, 1915), DROUIN (1902), BUFFARD (1903, *apud* RAILLIET *in* DESCAZEUX, 1915), DARROU (1903), ANDRY & SUFFRAN (1908), FAYET & MOREAU (1908), FERRET, DUPUY & MERCIER (1910), FAYET (1910, 1912, 1922), LEWIS (1914), BULL (1916), MISSENARD (1918), LEWIS & SEDDON (1918), MAN-

GEMATIN (1919), DESCAZEUX (1920, 1935), H. E. REID (*in* RAENEY, 1920), SPITZ (1920), HODGKINS (1920), PÉRARD & DESCAZEUX (1921), MONNIER (1921), F. E. MASON (*in* LITTLEWOOD (1921), ROGER (1922), TORRES (1923, 1925 c), TORRES, FONSECA & LEÃO (1923 a b), BELPEL (1924, 1925 a b), BUXTON (1927), DIEULOUARD (1928, 1929), CHARIF (1931), PHELOUKIS & KNITHAKIS (1931), DATTA (1933 a b), VELU & ZOTTNER (1937), PIRES (1938 b) e VOGELSANG & GALLO (1941), estes últimos em bovino.

Entre outros, ocuparam-se ainda do assunto, no Brasil, CARINI (1908, que cita A. LUTZ), FERRET & DUPUY (1910, que citam J. M. B. DE ARAGÃO), DIEULOUARD (1927, *apud* PINTO, 1944) e PINTO & PROENÇA (1938).

Paralelamente a essa grande copia de provas, que, com algumas exceções, pareciam documentar tão bem a natureza habronêmica da esponja e permitirem deixar de lado outras hipóteses que haviam sido aventadas, por evidentemente insustentáveis, surgiam outros resultados, obtidos por vários pesquisadores, que vinham obscurecer a nitidez dos fatos até agora referidos, permitindo a afirmação de NEVEU-LEMAIRE (1936): “on discute encore aujourd’hui sur la nature parasitaire des plaies d’été”.

A feição mais perturbadora do problema era constituída pelo fato de, nas populações equinas, por mais homogêneas que fossem as condições de manutenção dos animais, haver sempre alguns, e sempre os mesmos, particularmente sujeitos à esponja, em contraste com outros, geralmente em maioria, que permaneciam indenes. Tal fato, que chamara a atenção de quase todos os que se ocuparam do assunto, deu margem a muitas conjecturas: TOMBS (1831, *apud* FISH, 1897) dá crédito à opinião de que o principal responsável pela doença, na Índia, seja o sangue árabe; a COLLINS (1874, *apud* FISH, 1897) pareceu que houvesse uma “bursattee diathesis” e que, em animal que já teve esponja, qualquer ferimento comum pode tornar-se a sede de nova doença no tempo das chuvas; SMITH (1879, *apud* HOWELL & HART, 1927) chegou mesmo a sugerir, como caminho capaz de resolver a etiologia da esponja, a obtenção “de dados estatísticos quanto à transmissão hereditária da doença, sua incidência no sexo e na linhagem, influência da idade, temperatura e condições de criação”; NEAL (1889) reconhece que a doença não é contagiosa e costuma atingir apenas os animais de “bom sangue”; LAW (1909, *apud* HOWELL & HART, 1927) acha que, à maneira do que ocorre em certas micoses, certos animais poderiam demonstrar suscetibilidade

constitucional à doença, em relação à qual outros permaneceriam estranhos. TEPPAZ (1919) admite que as diferenças observadas nas manifestações da doença são antes individuais, nelas não influenciando a raça do animal e, segundo DATTA (1933 *b*), nem a espécie do equídeo, em contraste com RAILLIET (1893), que regista maior suscetibilidade do jumento, e com NEAL (1889), que reconhece ser o burro mais resistente. Seria difícil imaginar maior conflito de opiniões a respeito de assunto aparentemente tão objetivo, o que está a indicar na realidade uma variabilidade de tal ordem no fenómeno, suficiente para inutilizar qualquer conclusão baseada em experiência pequena ou de carácter muito local.

Esta linha de investigação do problema poderá ser melhor apreciada pelos resultados a que chegaram vários pesquisadores recentes: FREEBORN, HART & HOWELL (1927) julgam ter encontrado na California a doença desacompanhada de habronemose gastrica nos equídeos, o que os levou a rejeitar o que denominam "teoria da etiologia parasitaria" da doença (os autores citam, entretanto, as restrições verbais de HALL à técnica utilizada na procura dos parasitas no estomago); HOWELL & HART (1927) voltam ao mesmo assunto do trabalho precedente, procurando demonstrar que as ocorrências de bursati na linhagem de cavalos Percheron da fazenda da Universidade da California tinham como causa principal um fundamento genetico, constituído por um gen dominante; BAYLIS (1929) opina que a presença das larvas de helmintos na esponja não passa de fato accidental; DATTA (1931, *apud* DATTA, 1933 *b*) não consegue reproduzir a doença por intermédio de moscas infectadas, o que o leva (1933 *b*), auxiliado por seus achados histopatológicos, a reeditar a "origem endogena" da esponja, de LAULANIÉ (1884 *a b*), mas de maneira não convincente; UNDERWOOD (1936) nega a participação das larvas de *Habronema* na etiologia da esponja e confessa não haver conseguido também diagnosticar a habronemose gastrica nos animais vivos; SCHAEFER (1937, *apud* WEISCHER, 1937) coloca a esponja entre as doenças constitucionais do cavalo, isto é, aquelas para cuja manifestação é requerida a concomitancia de um fundo herdado (fatores hereditários) com influências especiais do meio (fatores ambientes); WEISCHER (1937) concorda com essa opinião e, baseando-se na sua experiência na bacia do Ruhr, onde verificou que os animais que trabalhavam à flor da terra estavam sujeitos à esponja, ao passo que os destacados para as galerias das minas isentavam-se ou curavam-se da doença, admitiu que o fator ambiente importante

para desencadear a esponja fossem as moscas dos generos *Musca* L. e *Stomoxys* GEOFFROY, incapazes de se instalarem no interior das galerias das minas, onde as restantes condições de temperatura e de trabalho não são menos severas do que à superfície; PIRES (1938 a) não aceita o papel atribuído ao *H. muscae* na genese da esponja; PIRES (1938 c) admite a participação deste helminto na etiologia da doença; PIRES (1939) inclina-se a negar que o parasita em questão seja um dos agentes etiologicos da ferida de verão, pois não conseguiu reproduzi-la experimentalmente, nem através de moscas infectadas, nem por meio das larvas do helminto extraídas do insecto.

Encerrando esta apreciação dos dados bibliográficos que comprovam as discordancias existentes na interpretação da etiologia da esponja, não podemos deixar de focalizar o inconveniente de se levarem muito a serio os resultados negativos conseguidos na procura das larvas de helmintos nas lesões cutaneas, e mesmo dos parasitas adultos no estomago do hospedeiro, quando tais investigações não são realizadas por pesquisador suficientemente adestrado em helmintologia. A título de ilustração do nosso ponto de vista, permitimo-nos apresentar o contraste que é oferecido por dois investigadores da esponja, na mesma época, na mesma região (vizinhanças de Marselha) e praticamente nos mesmos tipos de hospedeiros, isto é, cavallhada do exército francês: ROGER (1921, p. 317) afirma — “Or nous avons vainement cherché les larvas d’Habronème sur les plaies d’été récentes et non traités”; por sua vez MONNIER (1921, p. 46) contesta — “sur les chevaux récemment infectés nous avons souvent réussi à mettre en évidence la larve incriminée, ou tout au moins ses débris”.

Quanto às dificuldades encontradas por vários pesquisadores na obtenção da esponja experimental a partir das larvas do helminto, pensamos que os resultados das nossas experiências, que parecem ser as primeiras de positividade realmente indiscutível, que se realizam, esclarecem completamente o assunto.

MATERIAL E TÉCNICA

As moscas utilizadas neste trabalho foram criadas sempre segundo MELLO & PEREIRA (1946), nas fezes de um mesmo cavalo, que se sabia ter habronemose gastrica intensa e cujo material era adequado à produção de esponjas. As moscas eram examinadas a partir do quinto dia da emergencia, segundo os dados de MELLO & CUOCOLO (1943 a); depois de anestesiadas eram elas decapitadas, e suas cabeças dissecadas em gotas de solução fisiológica, para a obtenção das larvas infectantes de *Habronema*. Estas larvas eram “pesca-

das" uma a uma por intermédio de um micro-gancho de vidro, feito estirando de novo, bruscamente, ao piloto de um bico de Bunsen, uma ponta de pipeta Pasteur.

O número desejado de larvas era reunido num tubo de centrifugador contendo água fisiológica; depois de lavar várias vezes, por decantação e troca da solução fisiológica, era o depósito com as larvas pipetado totalmente; posta a pipeta na vertical, com a extremidade livre para baixo, logo que as larvas desciam todas para a boca da pipeta era esta aplicada no ferimento experimental, deixando-se escorrer, lentamente, o mínimo de líquido necessário para acarretar a totalidade das larvas.

Os ferimentos eram feitos a bisturi, precedidos de anestesia local e com os cuidados comuns de assepsia. A experiência demonstrou que os ferimentos devem ser profundos, tanto mais quanto mais gordo for o animal, devendo preferivelmente atravessar a aponevrose superficial.

Os animais em estudo eram mantidos em baias isoladas e inteiramente a prova de moscas, durante todo o decorrer da experimentação. Além disso eram submetidos periodicamente ao xenodiagnostico, segundo a técnica de MELLO & CUOCOLO (1943 b).

Quando, no decorrer de uma tentativa de transformar em esponja um desses ferimentos, apresentava êle grande tendência a sarar, revestindo-se de uma crosta, era esta retirada diariamente e a ferida reavivada antes da deposição de novas larvas.

RESULTADOS

As experiências que serviram à elaboração do presente trabalho foram realizadas depois de considerável pratica adquirida na obtenção de esponjas experimentais.

Por ser inútil ocupar espaço com numerosas experiências, selecionamos apenas as realizadas em dois animais, que consideramos perfeitamente demonstrativas.

Cavalo n.º 168

Trata-se de um animal que nunca teve esponja. Foi submetido a cinco tentativas sucessivas de produção de esponja, cada uma com a duração de cerca de vinte dias; cada tentativa foi realizada em ferimento diferente.

Primeira tentativa (10/V — 30/V/1947). — No período de 20 dias foram feitas 17 aplicações de 200 larvas cada, num total de 3.400 larvas.

Desde o primeiro dia houve tendência para o aparecimento de uma crosta sobre a ferida, removida diariamente. Nos primeiros doze dias de duração da experiência a ferida apresentou alguma granulação e desenvolvimento; depois disso, entretanto, começou a regredir aceleradamente, terminando pela cura, apesar dos sucessivos reavivamentos e renovadas aplicações de larvas.

Segunda tentativa (10/VI — 27/VI/1947). — No período de 17 dias recebeu 14 aplicações de 300 larvas cada, num total de 4.200 larvas.

Os resultados foram semelhantes aos da experiência anterior. A mudança de orientação na marcha da ferida operou-se na altura do nono dia.

Terceira tentativa (1º/VII — 28/VII/1947). — No período de 26 dias recebeu 23 aplicações de 400 larvas cada, num total de 9.200 larvas.

Os resultados continuaram os mesmos, começando a involução da ferida no decimo-terceiro dia da experiência.

Quarta tentativa (21/VIII — 5/IX/1947). — No período de 15 dias recebeu 14 aplicações de 500 larvas cada, num total de 7.000 larvas.

Nenhuma alteração nos resultados. A involução da ferida acentuou-se a partir do nono dia, sendo fotografada no fim da experiência (estampa 14, fig. A).

Quinta tentativa (9/IX — 18/IX/1947). — No período de 9 dias recebeu 9 aplicações de 600 larvas cada, num total de 5.400 larvas.

Os resultados continuaram os mesmos. A involução da ferida acentuou-se depois do quarto dia.

Resumo. — Este cavalo foi submetido, em aplicações sucessivas, a 29.200 larvas infectantes de *Habronema*, sem desenvolver uma esponja típica, embora exibisse esboços do processo em cada tentativa. Se o trabalho fosse realizado somente com animais como este, que constituem maioria, seríamos levados a concluir que as larvas de *Habronema* nenhum papel desempenham na etiologia da esponja. A experiência foi abandonada depois da quinta tentativa por não proporcionar esperança de resultados positivos com quantidades razoáveis de larvas, nem haver qualquer indício de modificação na reatividade dos tecidos do animal no decorrer da experiência.

É interessante observar que durante todo o tempo que esse cavalo permaneceu na instalação a prova de moscas, ao abrigo portanto da infecção natural, desde princípios de maio até princípios de setembro (4 meses), seus xenodiagnosticos deram os seguintes resultados, baseados sempre no exame de 10 moscas e expressos em quantidade média de larvas do helminto por mosca examinada: 13/V = 2; 19/V = 1,3; 23/V = 1,8; 11/V = 2,8; 28/VI = 1,8; 10/VII = 4,1; 22/VII = 0,2; 23/VII = 1,3; 2/IX = 0,8; 5/IX = 1,1.

Portanto, se não for lícito concluir por uma certa redução no parasitismo gastrico, fica pelo menos evidente que esse parasitismo não aumentou no decorrer da experiência, e que portanto as 29.200 larvas infectantes de *Habronema* colocadas nas suas feridas tiveram outro destino que não o tubo gastro-intestinal.

Jumento s/n.

É um animal altamente sujeito à esponja espontanea. O fato de ser um jumento não influenciou na sua escolha, pois há cavalos igualmente sensíveis. Foi submetido às mesmas condições de experiência do cavalo n.º 168.

Primeira tentativa (5/XI — 21/XI/1947). — No período de 16 dias recebeu 9 aplicações de 300 larvas cada, num total de 2.700 larvas.

Desde o primeiro dia a ferida não mostrou tendência alguma para sarar; no quinto dia já tinha o aspecto granuloso de uma esponja; no sétimo dia tornara-se uma esponja típica e desbordava francamente, passando seu comprimento de 5,0 a 6,0 cm (aumento de 20 por cento) e a largura de 2,5 a 4,0 cm (aumento de 60 por cento); a partir do décimo dia não foram postas mais larvas na ferida, permanecendo a esponja estacionária até o último dia da experiência, quando apresentou os primeiros sinais de regressão.

S e g u n d a t e n t a t i v a (24/XI — 30/XI/1947). — No período de 6 dias recebeu 6 aplicações de 100 larvas cada, num total de 600 larvas.

O comportamento da lesão foi comparável ao da primeira tentativa, de tal modo que, no quinto dia, a esponja tinha-se transformado em massa exuberante, de cerca de 2,0 cm de saliência em relação à pele circunvizinha; nesse dia (29/XI) foi fotografada (estampa 14, fig. B).

T e r c e i r a t e n t a t i v a (9/I — 28/I/1948). — No período de 19 dias recebeu 17 aplicações de 75 larvas cada, num total de 1.275 larvas.

A ferida começou a apresentar um comportamento semelhante ao das experiências anteriores, mantendo-se aberta: no décimo dia já se notava pequena esponja característica, protegida por uma crosta irregular e rachada. Este aspecto conservou-se imutável até o fim da experiência. Tinha-se a impressão de que a dose diária de larvas era suficiente para desencadear e entreter o processo, mas insuficiente para fazê-lo progredir francamente.

Q u a r t a t e n t a t i v a (26/XII/1947 — 8/I/1948. — No período de 13 dias recebeu 10 aplicações de 50 larvas cada, num total de 500 larvas.

A ferida permaneceu aberta até o sétimo dia, quando já se notava granulação franca; no décimo dia recobriu-se de uma crosta firme, indicativa do início de regressão do processo.

C o n c l u s õ e s — Este jumento proporcionou resultados completamente diversos dos do cavalo n.º 168. Com uma dose diária de larvas de *Habronema* da ordem de 8 por cento da máxima que havia sido improficua-mente utilizada no cavalo, desencadeiam-se fenômenos grosseiramente comparáveis aos deste, embora com ligeira vantagem reacional a favor do jumento. Elevando-se a dose diária de larvas a cerca de 12,5 por cento já se obtem uma esponja nítida, embora sem o necessário impulso para se desenvolver francamente. Doses diárias representativas de cerca de 16,5 por cento para cima desencadeiam e fomentam uma esponja com tendência para crescer exuberantemente. Portanto este animal não só confirma a origem habronemica da esponja, como indica a existência, até certo ponto, de um nexó quantitativo entre as larvas de *Habronema* e a instalação da esponja.

Além disso, o que parece importar realmente no incremento da esponja* é a regularidade na deposição diária da dose necessária de larvas, variável provavelmente com o grau de suscetibilidade do animal.

O jumento em questão foi também mantido em instalação a prova de moscas desde meados de outubro até meados de janeiro seguinte (3 meses); seus xenodiagnosticos, feitos com o mesmo critério que para o cavalo n.º 168, deram os seguintes resultados: 17/X/1937 = 0,5; 14/XI = 0,4; 9/I/1948 = 0,3. Portanto, também neste caso, as 5.075 larvas que estiveram em jogo na produção de suas esponjas não parecem ter atingido o estomago do hospedeiro.

DISCUSSÃO

Como vimos na introdução, duas tendências principais, aparentemente contraditórias, vieram entrechocando-se desde os primeiros trabalhos realizados para o esclarecimento da etiologia da esponja: a hipótese habronemica, rica em fatos favoráveis, alguns mesmo experimentais, e a hipótese constitucional, baseada princi-

palmente na observação da incidência salteada da doença espontânea, na sua recorrência anual nos mesmos indivíduos e na dificuldade de se reproduzir experimentalmente a molestia. Ambas requeriam o concurso do tempo quente e humido, que para alguns autores chegou a assumir, por sua vez, o caráter de hipótese autônoma.

Das tentativas feitas para justificar, dentro da teoria habronêmica estrita, as peculiaridades na incidência da doença nas populações equinas, merecem referência: a de DIEULOUARD (1928), para quem uma primeira esponja sensibilizaria o hospedeiro, predispondo-o a novos ataques da doença, o que parece não se confirmar nas nossas experiências, pois justamente para se obter a primeira esponja é indispensável já uma predisposição do animal; e a de DESCAZEUX & MOREL (1933 *a*), que procuraram estabelecer uma correlação entre a habronemose cutânea e as lesões gástricas do hospedeiro por *H. megastomum*, o que parece ser infirmado pelos resultados de FREEBORN, HART & HOWELL (1927) e de PIRES (1939), que não viram relação alguma entre as duas manifestações da doença.

A hipótese da predisposição alcançou sua expressão máxima com HOWELL & HART (1927), que não só negaram qualquer influência parasitária nos casos por eles estudados, como chegaram à conclusão de que estes ficariam esclarecidos caso se admitisse que tivessem origem genética e corressem por conta de um gen dominante.

Cremos que as experiências escolhidas por nós para servirem de motivo a este trabalho prestam-se para o devido esclarecimento da questão.

A produção fácil de esponjas no organismo altamente suscetível do jumento s/n, na dependência de uma quantidade limiar diária de larvas de *Habronema* indica que são estas, de fato, o agente desencadeador da doença. Parece esta a primeira vez que se obtem esponjas típicas, diretamente a partir de larvas do helminto.

Por outro lado, a negatividade das experiências no cavalo n.º 168, que se mostrou fortemente refratário, mesmo com quantidades maciças de larvas de *Habronema*, revela que estas, por si sós, são insuficientes para desencadear a doença, se não houver a cooperação de um organismo a isso predisposto naturalmente.

Ainda mais, o grau de predisposição ou de refratariedade desses animais pareceu não se alterar sensivelmente no decorrer das ex-

periências, que duraram amplo lapso de tempo, o que sugere apreciável estabilidade dos mecanismos reacionais do hospedeiro, pelo menos depois de adquirirem plena expressão.

Por conseguinte, as nossas experiências parecem assumir o caráter de uma ponte que vem ligar as duas concepções extremadas, a habronemica e a constitucional, que longe de estarem em conflito, como parecia a muitos, entrosam-se de fato muito harmoniosamente na etiologia da esponja.

Quanto à natureza dessa predisposição à esponja, a única hipótese existente é a já referida, de HOWELL & HART (1927), baseada em dados escassos. Tem ela entretanto o mérito de coincidir fundamentalmente com as conclusões de RICHARDS & BALYEAT (1933) e de SCHMIDT-KEHL (1933) a respeito da herança das manifestações alérgicas em gente, isto é, da existência de um gen dominante, de penetrância relativamente baixa e responsável pela inclinação à hipersensibilidade, possivelmente dotado de expressividade variável ou modificável por outros gens, de modo a traduzir todo o polimorfismo das manifestações alérgicas; este mecanismo foi confirmado mais recentemente por STILES & JOHNSTON (1946).

A se comprovar essa hipótese, o que é perfeitamente verossímil, a profilaxia da esponja deixará de ser apenas um problema sanitário para tornar-se também um dos objetivos do zootecnista, que deverá ter em linha de conta mais este critério na seleção dos equídeos, mormente nas regiões tropicais.

ROLE OF THE HOST PREDISPOSITION ON THE PRODUCTION OF CUTANEOUS HABRONEMIASIS ("SUMMER-SORES") OF EQUINES

A b s t r a c t

A brief account is made of the literature on the etiology of the "summer-sores" of equines, emphasising the conflicting opinions on the two main admitted etiologic agents, viz the so-called habronemic and diathetic theories.

*A horse, previously shown to be refractory to "summer-sores", was exposed in five successive instances, in a fly-proof room, to daily doses of *H. m u s c a e* larvae, deposited in artificial wounds: 17 days to 200 larvae (total, 3,400 larvae); 14 days to 300 larvae (total, 4,200 larvae); 23 days to 400 larvae (total, 9,200 larvae); 14 days to 500 larvae (total, 7,000 larvae); and 9 days to 600 larvae (total, 5,400 larvae); in all 29,200 larvae. No "summer-sores" were*

developed and the xenodiagnosis performed 10 times in four months disclosed no increase in the gastric parasitism of the host by mature worms.

On the other hand, a donkey, subject to spontaneously recurring sores each summer, was also exposed, in four successive instances, to daily doses in the same manner: 9 days to 300 larvae (total, 2,700 larvae); 6 days to 100 larvae (total, 600 larvae); 17 days to 75 larvae (total, 1,275 larvae); and 10 days to 50 larvae (total, 500 larvae); in all 5,075 larvae. The first two experiments resulted in the production of typical and exuberant "summer-sores". In the third experiment, the "summer-sore" was established, but failed to spread. In the fourth experiment, the lesion not only failed to spread but regressed as in the five experiments on the horse. The xenodiagnosis performed 3 times in three months, disclosed also no increase in the gastric parasitism of the host by mature worms.

Obviously, the *Habronema* larvae are the inciting agent of the "summer-sores", but the disease only may acquire its full expression if the host exhibits a sort of predisposition.

The dominant gene hypothesis of Howell & Hart is discussed in the light of these experiments. References are also made to recent works on the heredity of human allergy.

BIBLIOGRAFIA

- ANDRY, C. & F. SUFFRAN — 1908 — Notes sur l'histopathologie comparée de la peau (tumeurs, folliculites a *Demodex*, Botryomycose, etc.). *Annales de Dermatologie et de Syphiligraphie*, 4e. Série, 9: 636-654.
- BAYLIS, H. A. — 1929 — A manual of helminthology medical and veterinary. Baillière, Tindall and Cox, London, XI + 303 pp.
- BELPEL, J. — 1924 — De l'habronémose cutanée des équidés, dermite granuleuse ou plaies d'été. Thèse Vétérinaire, Toulouse.
- BELPEL, J. — 1925 a — L'habronemosi cutanea degli equini. *La Clinica Veterinaria*, 48, (3): 163-175.
- BELPEL, J. — 1925 b — De l'habronémose cutanée des équidés. *Revue Vétérinaire*, 77, (1): 5-24.
- BOULEY, H. — 1850 — D'une variété particulière d'inflammation de la peau et des muqueuses apparentes, causée par le développement de granulations fibrino-calcaires dans les interstices du tissu inflammé. *Recueil de Médecine Vétérinaire Pratique*, 27: 945-966.
- BUFFARD, ? — 1903 — Affection parasitaire simulant la dourine. *Recueil de Mémoires et Observations sur l'Hygiène et la Médecine Vétérinaire*, 3e. Série, 4: 153-155.
- BULL, L. B. — 1916 — A granulomatous affection of the horse — Habronemic granulomata (cutaneous habronemiasis of Railliet). *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics*, 29 (3): 187-199.
- BULL, L. B. — 1919 — A contribution to the study of habronemiasis. A clinical, pathological, and experimental investigation of a granulomatous condition of the horse-habronemic granuloma. *Transactions of the Royal Society of South Australia*, 43: 85-141 + ests. 13-15.

- BUXTON, P. A. — 1927 — A parasitic fibroma on equines in Samoa. *Parasitology*, 19, (3): 352 + 1 est.
- CADÉAC, C. — 1902 — Contribution à l'étude des dermites parasitaires. *Journal de Médecine Vétérinaire et Zootechnie*, Lyon, 5e. Série, 6: 520-522.
- CARINI, A. — 1908 — Noticias sobre as zoonoses observadas no Brasil. *Revista Médica de São Paulo*, 11, N.º 22: 459-467.
- CHARIF, Y. — 1931 — Contribution à l'étude etiologique de l'habronémose cutanée. Discussion de la théorie parasitaire. Thèse Vétérinaire, Paris, 87 pp.
- CÉSARI, ? — 1923 — A propos de l'habronémose pulmonaire du cheval. *Bulletin de la Société Centrale de Médecine Vétérinaire*, 76: 193-196, in *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 99 (Annexe).
- COLLINS, F. F. — 1874 — Observations on bursottee. *The Veterinarian*, 47: 791-792.
- CRAWFORD, M. — 1926 — Development of *Habronema* larvae in drosophilid flies. *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics*, 39, (4): 321-323.
- DARROU, ? — 1903 — Notes sur les plaies d'été. *Bulletin de la Société Centrale de Médecine Vétérinaire*, 57: 556-558, in *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 80 (Annexe).
- DATTA, S. C. A. — 1931 — ? *Proceedings of the 18th Session of the Indian Science Congress*.
- DATTA, S. C. A. — 1933 a — Histopathological studies on 12 cases of helminthic granuloma of the equine skin. *Proceedings of the 20th Session of the Indian Science Congress*.
- DATTA, S. C. A. — 1933 b — The etiology of bursati. *The Indian Journal of Veterinary Science and Animal Husbandry*, 3: 217-236 + ests. 14-19.
- DESCAZEUX, J. — 1915 — Contribution à l'étude de l'"esponja" ou plaies d'été des équidés du Brésil (Rapport de A. Railliet). *Bulletin de la Société Centrale de Médecine Vétérinaire*, 68: 468-486, in *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 91 (Annexe).
- DESCAZEUX, J. — 1920 — Contribution à l'étude des plaies d'été. *Ibidem*, 73: 200-205, in 96 (Annexe).
- DESCAZEUX, J. — 1935 — Les plaies d'été. *Revue de Médecine Vétérinaire Militaire*, 19: 181-198.
- DESCAZEUX, J. & R. MOREL — 1933 a — Relations entre les habronémoses cutanées et gastriques du cheval. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 6: 364-367.
- DESCAZEUX, J. & R. MOREL — 1933 b — Diagnostique biologique (xénodiagnostic) des habronémoses gastriques du cheval. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 26, (8): 1.010-1.014.
- DIEULOUARD, P. — 1927 — Prophylaxia e tratamento das esponjas. Habronemose dos equideos. Imprensa Militar, Rio de Janeiro, 49 pp.
- DIEULOUARD, P. — 1928 — Habronémose des équidés au Brésil. Thèse Vétérinaire, Paris, 76 pp.
- DIEULOUARD, P. — 1929 — Habronémose pulmonaire des équidés. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 105, (4): 206-212.
- DROUIN, ? — 1902 — Filariose pulmonaire accompagnant les plaies d'été. *Bulletin de la Société Centrale de Médecine Vétérinaire*, 56: 654-660, in *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 79 (Annexe).
- ERCOLANI, G. B. — 1859 — Nuovi elementi teorico-pratici di medicina veterinaria, Bologna, 550 pp.
- FAYET, ? — 1910 — Au sujet des "plaies d'été" et de leur traitement. *Bulletin de la Société Centrale de Médecine Vétérinaire*, 64: 79-84, in *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 87 (Annexe).
- FAYET, ? — 1912 — Contribution à l'étude des plaies d'été. *Ibidem*, 66: 138-139, in 89 (Annexe).

- FAYET, ? — 1922 — A propos de l'habronémose cutanée (plaies d'été) et des communications de MM. Roger, Monnier et Descazeaux. *Ibidem*, 75 94-98, in 98 (Annexe).
- FAYET, ? & ? MOREAU — 1908 — Contribution à l'étude de la *Filari a i r r i - t a n s*, filaire des plaies d'été. *Ibidem*, 62: 462-463, in 85 (Annexe).
- FERRET, P. & A. DUPUY — 1910 — Contribution à l'étude d'une affection qui attaque les solipèdes au Brésil et dont les manifestations cutanées sont dites, dans le pays, "esponjas". *Revista Médico-Cirurgica do Brasil*. Rio de Janeiro, 18, (1): 16-19.
- FERRET, P., A. DUPUY & L. MERCIER — 1910 — Recherches sur l'"esponja", affection qui sévit sur les solipèdes en certaines régions du Brésil. *Comptes Rendues Hebdomadaires de la Société de Biologie*, 69: 654-656.
- FISH, P. A. — 1897 — Leeches. A histological investigation of two cases of an equine mycosis, with a historical account of a supposed similar disease, called bursattee, occurring in India. *U. S. Departement of Agriculture, Twelfth and Thirteenth Annual Reports of the Bureau of Animal Industry for the fiscal years 1895 and 1896*: 229-259 + ests. 19-25.
- FREEBORN, S. B., G. H. HART & C. E. HOWELL — 1927 — Confirmatory evidence that *H a b r o n e m a* larvae are not the etiological factor in Bursattee. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 71: N. S. 24: (1): 52-57.
- HART, R. S. — 1872 — Bursattee. *The Veterinarian*, 45: 607-610; 711-715; 917-921.
- HART, R. S. — 1873 — *Idem*. *Ibidem*, 46: 17-21; 97-102; 532-536.
- HILL, G. F. — 1918 — Relationship of insects to parasitic disease of stock. *Proceedings of the Royal Society of Victoria*, Melbourne, 31: 11-107 + 7 ests.
- HOGDSON, J. T. — 1853 — Diseases of horses endemic to India. *The Veterinarian*, 26: 121-123.
- HODGKINGS, J. R. — 1920 — A note on a type of marasmus amongst horses in India. *The Veterinary Journal*, 76, (6): 207-210.
- HOWELL, C. E. & G. H. HART — 1927 — An apparent hereditary epithelial defect factor, the possible etiology of bursattee in horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 71, N. S. 24, (3): 347-360.
- JOHNSTON, T. H. & M. J. BANCROFT — 1920 — The life-history of *H a b r o - n e m a* in relation to *M u s c a d o m e s t i c a* and native flies in Queensland. *Proceedings of the Royal Society of the Queensland*, Brisbane, 32, (5): 61-68.
- KERR, J. — 1829 — The disease to which horses are subject in the East Indies, termed Bausette. *The Veterinarian*, 2: 419-420.
- KNOTT, S. — 1877 — Few remarks relative to bursauttie. *The Veterinary Journal*, 4: 182-184.
- LAULANIÉ, F. — 1884 a — Sur la nature parasitaire des plaies d'été (Rapport de A. Railliet). *Bulletin de la Société Centrale de Médecine Vétérinaire*, 38 72-76, in *Recueil de Médecine Vétérinaire Pratique*, 61 (Annexe).
- LAULANIÉ, F. — 1884 b — Sur la dermite granuleuse. *Ibidem*, 38: 166-167, in 61 (Annexe).
- LAW, J. — 1909 — Granulation summer sores with fungi. Summer sores in horses. *The Veterinary Medicine*, 5: 57; 483.
- LEWIS, J. C. — 1914 — Equine granuloma in the northern territory of Australia. *The Journal of Comparative Pathology and Therapeutics*, 27: (1): 1-23.
- LEWIS, J. C. & H. R. SEDDON — 1918 — Habronemic conjonctivitis. *Ibidem*, 31, (2): 87-94.
- LIÉNAUX, E. — 1902 — La péribrônchite du cheval est d'origine vermineuse. *Annales de Médecine Vétérinaire*, Bruxelles, 51, (2): 80-88.
- LINGARD, A. — 1905 — Observations on the Filarial embryos found in the general circulation in Equinae, Bovidae and their probable pathological significance. London, Pt. 1, fasc. 1: IV+59 pp. + 12 ests.

- LITTLEWOOD, W. L. — 1921 — Ministry of Agriculture, Veterinary Service, Annual Report for the year 1919-20. Government Press, Cairo, 47 pp.
- MANGEMATIN, P. — 1919 — De l'habronémose cutanée des équidés. Thèse Vétérinaire, Lyon.
- MARTEL, H. — 1909 — Rapport sur les opérations du Service Vétérinaire Sanitaire de Paris et du Département de la Seine pendant l'année 1908, Paris. Citado pelo título em *Bulletin de la Société Centrale de Médecine Vétérinaire*, 63: 433, in *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 86 (Annexe).
- MARX, ? — 1876 — What is "Bursattee"? *The Veterinary Journal*, 3: 338-344.
- MELLO, M. J. & R. CUOCOLO — 1943 a — Técnica para o xenodiagnóstico da habronemose gástrica dos equídeos. *Arquivos do Instituto Biológico*, S. Paulo, 14: 217-226 + 1 est.
- MELLO, M. J. & R. CUOCOLO — 1943 b — Alguns aspectos das relações do Habronema muscae (Carter, 1861) com a mosca doméstica. *Ibidem*, 14: 227-234 + 1 est.
- MELLO, M. J. de & C. PEREIRA — 1946 — Determinismo da evasão das larvas de Habronema sp. da tromba da mosca doméstica. *Ibidem*, 17: 259-266.
- MEYRICK, J. J. — 1878 — Bursattee. *The Veterinary Journal*, 7: 318-321.
- MISSENARD, R. — 1918 — Plaies d'été avec complications pulmonaires. *Bulletin de la Société Centrale de Médecine Vétérinaire*, 71: 490-491, in *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 94 (Annexe).
- MONNIER, A. — 1921 — A propos de l'habronémose cutanée. *Ibidem*, 74: 459-463, in 107 (Annexe).
- MOREL, R. — 1934 — Contribution à l'étude des habronémoses. Thèse de Vétérinaire, Paris, 68 pp.
- NEAL, J. C. — 1889 — "Leeching" of horses and cattle. *U. S. Department of Agriculture, Fourth and Fifth Annual Reports of the Bureau of Animal Industry for the years 1887 and 1888*: 489.
- NEVEU-LEMAIRE, M. — 1936 — Traité d'Helminthologie Médicale et Vétérinaire. Vigot Frères, Editeurs, Paris, XXIII + 1.514 pp.
- NOCARD, E. — 1901 — Nodosités parasitaires du poumon simulant la morve chez un cheval atteint des plaies d'été. *Bulletin de la Société Centrale de Médecine Vétérinaire*, 55: 387-390, in *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 78 (Annexe).
- NUNN, J. A. — 1896 — Influence of rainfall on bursattee. *The Veterinary Journal*, 42: 346.
- PÉRARD, C. & J. DESCAZEUX — 1921 — Sur le parasite de la périfbronchite nodulaire du cheval. *Comptes Rendues Hebdomadaires de la Société de Biologie*, 85: 411-413.
- PHÉLOUKIS, T. & E. KNITHAKIS — 1931 — L'habronémose cutanée en Grèce. Étude clinique et étiologique. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, N. S. 4: 121-124.
- PINTO, C. — 1944 — Doenças infecciosas e parasitárias dos animais domésticos. Editora Científica, Rio de Janeiro, 760 pp.
- PINTO, C. & C. PROENÇA — 1938 — Etiologia dos aneurismas helmínticos e strongilose equina. *Revista da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo*, 1, (1): 19-42.
- PIRES, A. — 1938 a — Estudio experimental sobre la "llaga de verano". Introduccion. *Revista de Medicina Veterinaria*, Buenos Aires, 20, (9): 397-422.
- PIRES, A. — 1938 b — Estudio experimental sobre la "llaga de verano". Segunda parte: La eosinofilia y el diagnostico de la habronemosis cutánea. *Ibidem*, 20, (10/11): 489-511.
- PIRES, A. — 1938 c — Estudio experimental sobre la "llaga de verano". Tercera parte: Investigacion del porcentaje de habronemosis gastrica en equinos de distinta procedencia y su relacion con la "llaga de verano". *Anuario de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de La Plata*, 3: 251-296.

- PIRES, A. — 1939 — Estudio experimental sobre la “llaga de verano”. Cuarta parte: Investigación de las larvas de *Habronema* en las “llagas de verano”. Quinta parte: Ensayos sobre la reproducción experimental de la habronemosis cutánea. *Revista de Medicina Veterinaria*, Buenos Aires, **21**, (5/6): 206-241.
- PLACE, F. E. — 1906 — Bursati. *The Veterinary Record*, **18**: 646.
- RAILLIET, A. — 1893 — *Traité de Zoologie Médicale et Agricole*. 2e. Édition, 1er. Fascicule, Asselin et Houzeau, Paris, XV + 736 pp.
- RAILLIET, A. — 1923 — Les habronèmes et les habronémoses des équidés. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, **99**, (3): 65-81.
- RAILLIET, A. & A. HENRY — 1915 — Le parasite de la dermite granuleuse des équidés. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, **8**, (9): 695-704.
- RAINEY, W. — 1920 — Live-stock industry in Fiji. *Department of Agriculture, Circular 1* (7): 119-132, Government Printing, Suva.
- RANSOM, B. H. — 1911 — The life history of a parasitic nematode. *Habronema muscae*. *Science*, N. S., **34**, (17): 690-692.
- RANSOM, B. H. — 1913 — The life history of *Habronema muscae* (Carter), a parasite of the horse transmitted by the house fly. *U. S. Department of Agriculture, Bureau of Animal Industry, Bulletin 163*, 36 pp.
- RICHARDS, M. H. & R. M. BALYEAT — 1935 — The inheritance of allergy with special reference to migraine. *Genetics*, **18**, (2): 129-147.
- RIVOLTA, S. — 1868 — Natura parassitaria di alcuni fibromi e della psoriasi estivale, e pedicelli, o moscajole delle specie del genere *Equus*. *Journal de Vétérinaire du Midi*, Toulouse, p. 578; *Il Medico Veterinario*, Torino, p. 241.
- RIVOLTA, S. — 1884 — La natura prassitaria delle piaghe estive o gli effetti morbosi di una specie di *Filaria*, che si può denominare *Dermofilaria irritans*. *Giornale di Anatomia, Fisiologia e Patologia dei Animali*. Pisa, **16**: 128-134.
- ROGER, J. — 1921 — Au sujet de la présence d'un cryptocoque dans certains dermites granuleuses. *Bulletin de la Société Centrale de Médecine Vétérinaire*, **74**: 316-318, in *Recueil de Médecine Vétérinaire*, **97** (Annexe).
- ROGER, J. — 1922 — Conjunctivite granuleuse d'origine vermineuse chez le cheval. *Ibidem*, **75**: 345-346, in **98** (Annexe).
- ROUBAUD, E. & J. DESCAZEUX — 1921 — Contribution à l'histoire de la mouche domestique comme agent vecteur des habronémoses d'équidés. Cycle évolutif et parasitisme de l'*Habronema megastoma* (Rudolphi, 1819) chez la mouche. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, **14**, (8): 471-506 + 1 est.
- ROUBAUD, E. & J. DESCAZEUX — 1922 a — Évolution de l'*Habronema muscae* Carter chez la mouche domestique et de l'*H. microstoma* Schneider chez le stomoxe. *Ibidem*, **15**, (7): 572-574.
- ROUBAUD, E. & J. DESCAZEUX — 1922 b — Deuxième contribution à l'étude des mouches, dans leurs rapports avec l'évolution des Habronèmes d'Équidés. *Ibidem*, **15**, (10): 978-1.001.
- SCHAEFER, W. — 1937 — Konstitutionelle Hauterkrankungen beim Pferde. *Z. Zücht.-B.*, **37**: 295-330. 3 figs.
- SCHMIDT-KEHL, L. — 1933 — Ueber den Vererbungsmodus bei den allergischen Krankheiten. *Archiv fuer Rassen-u. Gesellschafts-Biologie*, **27**, (2): 175-179.
- SEN, S. K. — 1927 — Some recent advances in the protection of cattle and other animals against disease. X. Bursati, summer's sores or cutaneous habronemiasis: A short review of the literature. *Agricultural Journal of India*, **22**, (4): 281-286.
- SEWELL, E. — 1921 — A note on the importance of the genus *Habronema* as an economic factor amongst the Equidae of the Pundjab and the North-West Frontier Provinces. *The Veterinary Journal*, **77**, (10): 381-383.
- SMITH, F. — 1879 — Bursattee. *Ibidem*, **9**: 300-307; 383-393.

- SPITZ, G. — 1920 — Contribution à l'étude des plaies d'été (Habronémose cutanée des équidés). *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 96, (7/9): 208-216.
- STILES, C. W. & A. HASSALL — 1920 — Index-Catalogue of Medical and Veterinary zoology. Subjects: Roundworms. *U. S. Public Health Service, Hygienic Laboratory, Bulletin No 114*, 881 pp.
- STILES, K. A. & E. J. JOHNSTON — 1946 — A study of the inheritance of respiratory allergy. *Journal of Allergy*, 17, (1): 11-20.
- TEPPAZ, L. — 1919 — Sur la dermite granuleuse des équidés. *Bulletin de la Société Centrale de Médecine Vétérinaire*, 72: 470-473, in *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 95 (Annexe).
- TOMBS, J. — 1831 — The Indian Burusatte. *The Veterinarian*, 4: 541-542; 623-625; 665-668.
- TORRES, C. DE M. — 1923 — Habronémose pulmonaire (Habronema muscae Carter) expérimentalement reproduit chez le cobaye. *Comptes Rendues Hebdomadaires de la Société de Biologie*, 90: 242-243.
- TORRES, C. DE M. — 1925 a — Déterminisme de la libération spontanée des larves d'Habronema muscae (Carter, 1861) par la trompe de la mouche domestique; importance de l'hématotropisme. *Ibidem*, 93: 33-35.
- TORRES, C. DE M. — 1925 b — L'hématotropisme des larves mûres d'Habronema muscae (Carter, 1861). *Ibidem*, 93: 38-39.
- TORRES, C. DE M. — 1925 c — Sur l'habronémose pulmonaire expérimentale. *Ibidem*, 93: 214-216.
- TORRES, C. DE M., O. DA FONSECA & A. E. A. LEÃO — 1923 a — Granuloma habronemico (habronemose cutanea) dos equideos do Brasil. Etiologia da esponja dos cavalos. *Brazil-Medico*, Ano 37, 1, No 22: 301.
- TORRES, C. DE M., O. DA FONSECA & A. E. A. LEÃO — 1923 b — Sur la esponja (habronémose cutanée) des équidés au Brésil. *Comptes Rendues Hebdomadaires de la Société de Biologie*, 89: 764-765.
- TORRES, C. DE M., O. DA FONSECA & A. E. A. LEÃO — 1923 c — Sur la esponja (habronémose cutanée des équidés). Du parasitisme des mouches par l'Habronema muscae (Carter). *Ibidem*, 89: 767-768.
- UNDERWOOD, J. R. — 1936 — Habronemiasis. *Veterinary Bulletin of the U. S. Army*, 30: 16-28.
- VAN SACEGHEM, R. — 1917 — Contribution à l'étude de la dermite granuleuse des équidés. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 10, (8): 726-729.
- VAN SACEGHEM, R. — 1918 — Cause étiologique et traitement de la dermite granuleuse. *Ibidem*, 11, (7): 575-578.
- VELU, H. & G. ZOTTNER — 1937 — Chéloïdes géants consécutives à l'habronémose cutanée chez le baudet. *Ibidem*, 30, (6): 490-494.
- VOGELSANG, E. G. & P. GALLO — 1941 — Globidium besnoiti (Marotel, 1912) y habronemosis en bovino de Venezuela. *Revista de Medicina Veterinaria y Parasitologia*, Caracas, 3, (1/4): 153-155.
- WEISCHER, ? — 1937 — Beiträge zur Erforschung der Umweltfaktoren der Sommerwunden und der Sommerräude de Pferdes. *Berliner Tierärztliche Wochenschrift*, No 21: 317-318.

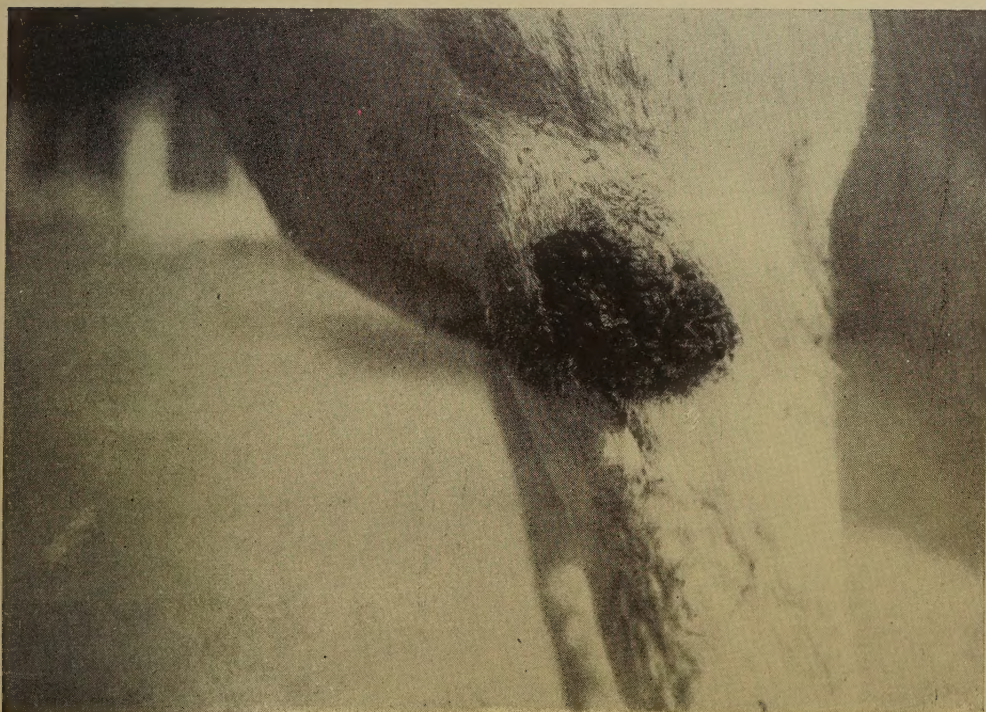
EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

Estampa 14

- Fig. A — Resultado da 4.^a tentativa de produção de “esponja” experimental, em cavalo refratário, depois de 14 aplicações de 500 larvas diárias de *Habronema muscae*.
- Fig. B — “Esponja” experimental, em jumento sensível, depois de 6 aplicações diárias de 100 larvas de *Habronema muscae*.
-



A



B

TIPOGRAFIA OSTRENSKY LTDA.
RUA THOMAZ CARVALHAL, 286
TEL. 7-1628
SÃO PAULO